

本文引用:程力平,张群威,高小玲,等.血清 Toll 样受体 4 和肿瘤坏死因子- α 水平与早产儿脑损伤的关系[J].
新乡医学院学报,2017,34(1):50-52. DOI:10.7683/xyxyxb.2017.01.014.

【临床研究】

血清 Toll 样受体 4 和肿瘤坏死因子- α 水平与早产儿脑损伤的关系

程力平, 张群威, 高小玲, 高 珊

(黄冈市中心医院儿科,湖北 黄冈 438000)

摘要: **目的** 探讨血清 Toll 样受体 4 (TLR4) 及肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 水平与早产儿脑损伤的关系。**方法** 选取 2012 年 1 月至 2014 年 1 月在黄冈市中心医院出生的早产儿 80 例作为早产儿组,并选取同期出生的足月新生儿 80 例作为对照组。早产儿组患者依据是否存在宫内感染分为宫内感染组 26 例和非宫内感染组 54 例,早产儿组患者出生后 6 个月,依据中国儿童发展中心 (CDCC) 智能发育量表和运动量表测定结果分为 CDCC 正常组 (评分 ≥ 80) 45 例和 CDCC 异常组 (评分 < 80) 35 例。采用酶联免疫吸附测定法测定血清 TLR4 和 TNF- α 水平,对各组新生儿血清 TLR4 和 TNF- α 水平进行比较。**结果** 出生第 1、2、3 天,早产儿组新生儿血清 TLR4 和 TNF- α 水平均显著高于对照组 ($P < 0.05$),宫内感染组新生儿血清 TLR4 和 TNF- α 水平均显著高于非宫内感染组 ($P < 0.05$)。出生后 6 个月,CDCC 异常组婴儿血清 TLR4 和 TNF- α 水平显著高于 CDCC 正常组 ($P < 0.05$)。**结论** 早产儿血清 TLR4 和 TNF- α 水平显著升高,其可能与早产儿脑损伤有一定关系。

关键词: Toll 样受体 4;肿瘤坏死因子- α ;早产儿;脑损伤

中图分类号: R722.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2017)01-0050-03

Relationship between the levels of serum Toll-like receptor 4, tumor necrosis factor- α and brain injury in preterm infants

CHENG Li-ping, ZHANG Qun-wei, GAO Xiao-ling, GAO Shan

(Department of Pediatrics, Huanggang Central Hospital, Huanggang 438000, Hubei Province, China)

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between the levels of Toll-like receptor 4 (TLR4), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and brain injury in preterm infants. **Methods** Eighty premature infants who were born in Huanggang Central Hospital from January 2012 to January 2014 were selected as premature infant group, and eighty full-term newborns were selected as control group. The premature infants were divided into intrauterine infection group ($n = 26$) and non intrauterine infection group ($n = 54$) according to whether there was intrauterine infection. According to the results of intelligence development scale and motion scale of Children's Developmental Center of China (CDCC), the premature infants were divided into CDCC normal group (score ≥ 80 , $n = 45$) and CDCC abnormal group (score < 80 , $n = 35$). The levels of serum TLR4 and TNF- α were detected by enzyme linked immunosorbent assay. The levels of serum TLR4 and TNF- α were compared in the groups. **Results** At the first, second and third day after birth, the levels of serum TLR4 and TNF- α in premature infant group were significantly higher than those in control group ($P < 0.01$), the levels of serum TLR4 and TNF- α in intrauterine infection group were significantly higher than those in non intrauterine infection group ($P < 0.05$). The levels of serum TLR4 and TNF- α in CDCC abnormal group were significantly higher than those in CDCC normal group six months after birth ($P < 0.05$). **Conclusion** The levels of serum TLR4 and TNF- α in premature infants are significantly increased, which may be related to the brain injury in preterm infants.

Key words: Toll-like receptor 4; tumor necrosis factor- α ; premature infant; brain injury

早产儿是指胎龄 37 足周以前出生的活产婴儿, 占分娩总数的 5% ~ 15%^[1]。早产儿脑损伤分为脑白质损伤、脑非实质区出血和脑其他部位 (小脑、基底神经节、脑干等) 损伤^[2]。早产儿脑白质损伤是发生脑性瘫痪的最危险因素。早产儿脑损伤的发生

机制中宫内感染占重要地位^[3]。Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 及肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 是中枢神经系统调节机体损伤和防御的重要因子, 影响神经细胞的分化和生长^[4]。本研究通过观察早产儿血清中 TNF- α 和 TLR4 水平, 探讨 TNF- α 、TLR4 与早产儿脑损伤的相关性。

DOI:10.7683/xyxyxb.2017.01.014

收稿日期:2016-09-18

作者简介:程力平(1978-),男,湖北武穴人,学士,主治医师,研究方向:早产儿脑损伤。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2012 年 1 月至 2014 年 1 月在黄冈市中心医院出生的早产儿,病例纳入及排除标准:(1)孕妇均为适龄产妇,且为顺产;(2)新生儿无宫内窘迫史、窒息史,Apgar 评分 8~10 分;(3)排除母亲子宫畸形、子宫肌瘤、胎盘早剥、前置胎盘、多胎等原因所致早产儿;(3)排除双胞胎或多胞胎。共选取早产儿 80 例(早产儿组),男 43 例,女 37 例,胎龄 29~36⁺⁶周。另选取同期出生的足月新生儿 80 例(对照组),男 40 例,女 40 例,胎龄 37~42 周。早产儿组与对照组受试者的性别比较差异无统计学意义($P>0.05$)。早产儿组患者依据是否存在宫内感染分为宫内感染组和非宫内感染组:宫内感染组 26 例,男 14 例,女 12 例,胎龄 29~35 周;非宫内感染组 54 例,男 29 例,女 25 例,胎龄 29~36 周;宫内感染组与非宫内感染组早产儿性别、孕周比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。早产儿组患者出生 6 个月后,依据中国儿童发展中心(Children's Developmental Center of China,CDCC)智能发育量表和运动量表^[5]测定结果分为 CDCC 正常组(评分 ≥ 80)和 CDCC 异常组(评分 <80);CDCC 正常组 45 例,男 22 例,女 23 例,胎龄 29~35 周;CDCC 异常组 35 例,男 21 例,女 14 例,胎龄 29~36 周;CDCC 正常组与 CDCC 异常组早产儿性别、孕周比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。本研究获得医院伦理委员会批准,所有受试者父母签署知情同意书。

1.2 血清 TNF-α、TLR4 水平检测 分别于胎儿出生第 1、2、3 天股静脉采血 2 mL,4℃下 4 000 r·min⁻¹离心 6 min,取血清,-80℃保存样品待测。采用酶联免疫吸附测定法测定血清 TLR4 和 TNF-α 水平,试剂盒购自南京建成生物工程有限公司。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 12.0 软件进行统计分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 早产儿组与对照组新生儿血清 TLR4 和 TNF-α 水平比较 结果见表 1。出生第 1、2、3 天,早产儿组新生儿血清 TLR4 和 TNF-α 水平均显著高于对照组($P<0.05$),早产儿组新生儿血清 TLR4 水平逐渐降低($P<0.05$),对照组新生儿血清 TLR4 水平变化差异无统计学意义($P>0.05$)。2 组新生儿出生第 2、3 天血清 TNF-α 水平显著低于出生第 1 天($P<0.05$),但 2 组新生儿出生第 2 天与第 3 天血清 TNF-α 水平比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 早产儿组与对照组新生儿血清 TLR4 和 TNF-α 水平比较

Tab.1 Comparison of the levels of serum TLR4 and TNF-α between premature infant group and control group ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	TLR4/(pg·L ⁻¹)	TNF-α/(pg·L ⁻¹)
对照组	80		
出生第 1 天		6.84±6.95	0.095±0.081
出生第 2 天		6.77±6.58	0.013±0.008 ^a
出生第 3 天		6.92±6.59	0.014±0.006 ^a
早产儿组	80		
出生第 1 天		19.88±8.53 ^b	1.895±2.642 ^b
出生第 2 天		16.26±7.56 ^b	0.795±0.936 ^{ab}
出生第 3 天		11.29±5.48 ^b	0.763±0.751 ^{ab}

注:与出生第 1 天比较^a $P<0.05$;与对照组比较^b $P<0.05$ 。

2.2 宫内感染组与非宫内感染组新生儿血清 TLR4 和 TNF-α 水平比较 结果见表 2。出生第 1、2、3 天,宫内感染组新生儿血清 TLR4 和 TNF-α 水平均显著高于非宫内感染组($P<0.05$),宫内感染组新生儿血清 TLR4 水平逐渐降低($P<0.05$),非宫内感染组新生儿血清 TLR4 水平变化差异无统计学意义($P>0.05$)。2 组新生儿出生第 2、3 天血清 TNF-α 水平显著低于出生第 1 天($P<0.05$),但 2 组新生儿出生第 2 天与第 3 天血清 TNF-α 水平比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。

表 2 宫内感染组与非宫内感染组新生儿血清 TLR4 和 TNF-α 水平比较

Tab.2 Comparison of the levels of serum TLR4 and TNF-α between intrauterine infection group and non intrauterine infection group ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	TLR4/(pg·L ⁻¹)	TNF-α/(pg·L ⁻¹)
非宫内感染组	54		
出生第 1 天		12.56±6.89	0.801±0.547
出生第 2 天		10.56±5.55	0.399±0.146 ^a
出生第 3 天		8.49±3.89	0.433±0.198 ^a
宫内感染组	26		
出生第 1 天		23.78±7.55 ^b	2.999±3.426 ^b
出生第 2 天		18.59±6.49 ^b	1.265±1.242 ^{ab}
出生第 3 天		13.57±4.77 ^b	1.179±0.981 ^{ab}

注:与出生第 1 天比较^a $P<0.05$;与非宫内感染组比较^b $P<0.05$ 。

2.3 CDCC 正常组与 CDCC 异常组婴儿血清 TLR4 和 TNF-α 水平比较 结果见表 3。出生后 6 个月,CDCC 异常组婴儿血清 TLR4 和 TNF-α 水平显著高于 CDCC 正常组($P<0.05$)。

表 3 CDCC 正常组与 CDCC 异常组婴儿血清 TLR4 和 TNF-α 水平比较

Tab.3 Comparison of the levels of serum TLR4 and TNF-α between CDCC normal group and CDCC abnormal group ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	TLR4/(pg·L ⁻¹)	TNF-α/(pg·L ⁻¹)
CDCC 正常组	45	5.42±2.36	0.499±0.093
CDCC 异常组	35	11.48±5.49 ^a	0.803±0.599 ^a

注:与 CDCC 正常组比较^a $P<0.05$ 。

3 讨论

我国早产儿发生率约为 8.1%, 脑性瘫痪与早产儿脑损伤有密切关系, 而宫内感染是导致伴或不伴完整胎膜的早产的主要诱因^[6]。早产儿脑损伤的发生机制是当前的研究热点, 近年来有研究表明宫内感染是早产儿脑损伤的重要原因, 宫内感染的早产儿脑损伤可能与多种细胞因子增多有关^[5,7]。宫内感染可引起胎儿炎症反应综合征, 导致多脏器损伤, 其中脑室周围白质软化、脑室周围及脑室内出血、脑性瘫痪、认知功能障碍、癫痫等脑损伤表现尤为突出^[8-9]。胎儿受到损伤或感染后, 受累的组织或网状内皮系统的炎症细胞被激活, 致使炎症介质释放, 引起羊水或胎儿血液循环中炎症细胞因子白细胞介素-1、白细胞介素-6 和 TNF- α 等水平升高, 绒毛膜胎盘或脐带血管壁出现炎症细胞浸润, 临床出现感染或亚临床感染^[10]。研究显示, 绒毛膜羊膜炎孕妇胎儿脑性瘫痪发生率显著高于无感染胎儿^[11-12]。宫内感染致早产的可能机制为: 感染产物刺激机体, 局部出现炎症反应紊乱, 妊娠组织释放炎症细胞因子失控, 宫内胎儿炎症反应, 最终导致早产。早产与脑损伤密切相关, 约 50% 的脑性瘫痪患儿出生时胎龄小于 37 周^[13]; 胎龄 < 28 周时, 脑性瘫痪发生率约为 78%; 胎龄 31 ~ 32 周时, 脑性瘫痪发生率约为 60%; 胎龄 33 ~ 34 周时, 脑性瘫痪发生率约为 10%^[14]。早产儿脑损伤主要表现为脑白质损害, 脑白质损害主要与远期运动功能障碍(如脑性瘫痪)相关, 部分还会导致认知、行为障碍^[15]。

本研究结果显示, 早产儿血清 TLR4 和 TNF- α 水平显著高于足月新生儿, 提示胎儿炎症反应可能与早产密切相关。微生物在宫内上行感染中, 局部炎症反应导致白细胞介素-6、TNF- α 、白细胞介素-8 等炎症因子表达上调, 通过细胞间信号传导, 导致炎症反应加重并促发早产。研究表明, 病原体受体中 Toll 样受体家族所调控的免疫炎症反应在脑损伤过程中发挥重要作用^[16]。TLR4 是脂多糖的特异性受体, TLR4 活化并与小胶质细胞上的 TLR4 结合, 可导致一系列炎症级联反应, 从而引起脑损伤。本研究结果显示, CDCC 异常组早产儿血清 TLR4 和 TNF- α 水平显著高于 CDCC 正常组。

综上所述, 早产儿血清 TLR4 和 TNF- α 水平显著升高, 其可能与早产儿脑损伤有一定关系。

参考文献:

[1] WANG L N, LI Z Z, ZHANG X J, *et al.* Protective effect of shiko-

nin in experimental ischemic stroke: attenuated TLR4, p-p38MAPK, NF- κ B, TNF- α and MMP-9 expression, up-regulated claudin-5 expression, ameliorated BBB permeability [J]. *Neurochem Res*, 2014, 39(1): 97-106.

[2] LIN S, YIN Q, ZHONG Q, *et al.* Heme activates TLR4-mediated inflammatory injury via MyD88/TRIF signaling pathway in intracerebral hemorrhage [J]. *J Neuroinflammation*, 2012, 9(1): 2228-2235.

[3] 夏世文, 周茜茜, 胡玉莲, 等. 宫内感染早产儿血清及脑脊液炎症因子与脑损伤的关系 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2015, 30(18): 1425-1427.

[4] WANG Y C, LIN S, YANG Q W. Toll-like receptors in cerebral ischemic inflammatory injury [J]. *J Neuroinflammation*, 2011, 8: 134.

[5] LAN L, TAO J, CHEN A, *et al.* Electroacupuncture exerts anti-inflammatory effects in cerebral ischemia-reperfusion injured rats via suppression of the TLR4/NF- κ B pathway [J]. *Int J Mol Med*, 2013, 31(1): 75-80.

[6] 郑军, 张婉娟. 早产儿围生期脑损伤的危险因素及其防治策略 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2015, 30(14): 1057-1059.

[7] 卢红艳, 张强, 常明, 等. 脐血及羊水生物学标志预测胎膜早破早产儿脑损伤的价值 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2016, 31(6): 452-456.

[8] GRAM M, SVEINSDOTTIR S, RUSCHER K, *et al.* Hemoglobin induces inflammation after preterm intraventricular hemorrhage by methemoglobin formation [J]. *J Neuroinflammation*, 2013, 10: 100.

[9] 王晶晶, 陈超. 早产儿脑病发生率的流行病学研究进展 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2015, 30(10): 796-798.

[10] LIN M, LI L, LI L, *et al.* The protective effect of baicalin against renal ischemia-reperfusion injury through inhibition of inflammation and apoptosis [J]. *BMC Complementary Altern Med*, 2014, 14: 19.

[11] SMOLINSKA M J, PAGE T H, URBANIAK A M, *et al.* Hck tyrosine kinase regulates TLR4-induced TNF and IL-6 production via AP-1 [J]. *J Immunol*, 2011, 187(11): 6043-6051.

[12] 李明超, 邢珊. 早产儿脑损伤、母亲绒毛膜羊膜炎及脐动脉血白细胞介素-6 水平的关系 [J]. 新乡医学院学报, 2016, 33(10): 875-877.

[13] VOLPE J J, KINNEY H C, JENSEN F E, *et al.* Reprint of "The developing oligodendrocyte: key cellular target in brain injury in the premature infant" [J]. *Int J Dev Neurosci*, 2011, 29(6): 565-582.

[14] FANG H, WANG P F, ZHOU Y, *et al.* Toll-like receptor 4 signaling in intracerebral hemorrhage-induced inflammation and injury [J]. *J Neuroinflammation*, 2013, 10: 27.

[15] BACK S A, MILLER S P. Brain injury in premature neonates: a primary cerebral dysmaturation disorder [J]. *Ann Neurol*, 2014, 75(4): 469-486.

[16] MITÁSOVÁ E, KACEROVSKY M, KREJSEK J, *et al.* Umbilical cord blood soluble Toll-like receptor 2 in pregnancies complicated by preterm premature rupture of membranes [J]. *Ceska Gynekol*, 2013, 78(4): 365-372.

(本文编辑: 徐自超 英文编辑: 徐自超)