

- [9] Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(30): 10513-10518.
- [10] Ji X, Takahashi R, Hiura Y, et al. Plasma miR-208 as a biomarker of myocardial injury[J]. Clin Chem, 2009, 55(11): 1944-1949.
- [11] Valadi H, Ekstrom K, Bossios A, et al. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells[J]. Nat Cell Biol, 2007, 9(6): 654-659.
- [12] Taylor DD, Gercel-Taylor C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer[J]. Gynecol Oncol, 2008, 110(1): 13-21.
- [13] Jan CB, Daniela W, Ruprecht K, et al. Serum microRNAs as non-invasive biomarkers for cancer[J]. Molecular Cancer, 2010, 9(2): 306-314.
- [14] Ng EK, Chong WW, Jin H, et al. Differential expression of microRNAs in plasma of patients with colorectal cancer; a potential marker for colorectal cancer screening[J]. Gut, 2009, 58(10): 1375-1381.
- [15] Huang Z, Huang D, Ni S, et al. Plasma microRNAs are promising novel biomarkers for early detection of colorectal cancer[J]. Int J Cancer, 2010, 127(1): 118-126.
- [16] Resnick KE, Alder H, Hagan JP, et al. The detection of differentially expressed microRNAs from the serum of ovarian cancer patients using a novel real-time PCR platform[J]. Gynecol Oncol, 2009, 112(1): 55-59.
- [17] Lodes MJ, Caraballo M, Suci D, et al. Detection of cancer with serum miRNAs on an oligonucleotide microarray[J]. PLoS One, 2009, 4(7): e6229.
- [18] Brase JC, Johannes M, Schlomm T, et al. Circulating miRNAs are correlated with tumor progression in prostate cancer[J]. Int J Cancer, 2011, 128(3): 608-616.
- [19] Hu Z, Chen X, Zhao Y, et al. Serum microRNA signatures identified in a genome-wide serum microRNA expression profiling predict survival of non-small-cell lung cancer[J]. J Clin Oncol, 2010, 28(10): 1721-1726.
- [20] Chen C, Ridzon DA, Broomer AJ, et al. Real-time quantification of microRNAs by stem-loop RT-PCR[J]. Nucleic Acids Res, 2005, 33(20): e179.
- [21] Kozomara A, Griffiths-Jones S. miRBase: integrating microRNA annotation and deep-sequencing data[J/OL]. Nucleic Acids Res, 2010-10-30 [2012-06-14]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21037258>.
- [22] Kroh EM, Parkin RK, Mitchell PS, et al. Analysis of circulating microRNA biomarkers in plasma and serum using quantitative reverse transcription-PCR (qRT-PCR)[J]. Methods, 2010, 50(4): 298-301.

(收稿日期: 2012-01-09)

• 综 述 •

缺血性脑卒中生物标志物研究进展

张春和¹, 金 艳¹综述, 代国军²审校

(1. 河北省沧州市人民医院检验科, 河北沧州 061000;

2. 河北省沧县疾病预防控制中心检验科, 河北沧县 061000)

关键词: 卒中; 生物学标记; 综述

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 18. 028

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)18-2231-03

脑卒中(CS)是导致 60 岁以上人群死亡的第二大疾病。中国 CS 患者的年死亡率达 1. 57%, 已成为致死率最高的疾病, 其主要类型是缺血性脑卒中(CIS), 约占 43%~79%。CIS 生物标志物检测可用于疾病诊治及疗效、风险评估。现就 CIS 生物标志物的临床研究进展综述如下。

1 脂蛋白相关磷脂酶 A2(Lp-PLA2)

Lp-PLA2 是相对分子质量 50×10^3 , 不依赖钙离子的丝氨酸脂肪酶, 能水解氧化磷脂, 释放促进炎症的溶血卵磷脂, 并能氧化脂肪酸^[1]。氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)作为一种危险因子, 通过促进炎症而引起动脉粥样硬化(AS)。Lp-PLA2 在 ox-LDL 的促炎效应和引起 AS 的过程中起着重要作用, 是介导 ox-LDL 产生以上生物学效应的关键酶。Lp-PLA2 可损伤血管内皮细胞, 具有促进 AS 的作用, 是诱发急性缺血性脑卒中(ACIS)的重要因素之一^[2]。在 AS 早期阶段, 损伤、感染及 ox-LDL 均可促使单核细胞吞噬脂质相继形成巨噬细胞、泡沫细胞, 而激活的巨噬细胞、T 淋巴细胞、血管平滑肌细胞和内皮细胞释放各种炎性介质, 从而促进 AS 的发生与发展。血清 Lp-PLA2 浓度与动脉粥样硬化斑块(AP)稳定性有关, 可反映脂质斑块的稳定程度及斑块局部的炎症程度。临床试验证实, Lp-PLA2 是 CIS 的独立预测指标^[3]。有学者对近 8 000 名平均年龄 55 岁以上的受试者进行了回顾性和前瞻性研究, 结果

显示血浆 Lp-PLA2 浓度与 CIS 发病风险呈正相关; 队列研究显示, 有 110 人在中位随访时间 6. 4 年内发生 CIS^[4]。

2 非对称二甲基精氨酸 (ADMA)

ADMA 是内源性一氧化氮合酶(NOS)竞争性抑制剂, 正常低浓度 ADMA 不足以抑制 NOS 活性; 当 ADMA 浓度升高至一定水平时, 即可产生抑制效应, 导致 NO 产生减少及血管内皮功能紊乱。ADMA 可通过诱发氧化应激反应诱导生成多种炎症因子, 促进平滑肌细胞凋亡而促进 AS 发生和发展。ADMA 亦可增强巨噬细胞诱导型 NOS 的表达, 促进巨噬细胞转化为泡沫细胞。

有研究指出, 包括内皮细胞在内的多种细胞都可以产生 ADMA^[15]。Bopez-Jaramillo 等^[6]的研究显示, NO 可以调节白细胞黏附和血小板聚集, 与血小板聚集存在明显相关性。可见 ADMA 血液浓度升高与血管性疾病密切相关, 提示 ADMA 是血管内皮功能失调的危险因子和 AS 诱发因子, 有可能成为血管疾病新的标志物。另有研究显示, 血浆 ADMA 浓度升高可促进 AS 进展, 是导致 ACIS 的危险因素, 与 ACIS 发病风险呈正相关^[7-8]。

3 基质金属蛋白酶-9(MMP-9)

基质金属蛋白酶(MMPs)是一类 Zn^{2+} 依赖的中性蛋白酶, 参与体内多种生理和病理过程, 正常情况下与金属蛋白酶

组织抑制剂处于动态平衡。MMPs 既参与正常生理过程(如伤口愈合、血管生成等),也参与癌细胞扩散、风湿性关节炎、AS 和神经系统炎症等病理损伤过程。它在中枢神经系统炎症中有很强的破坏作用,通过攻击脑血管基底膜和破坏血脑屏障,导致脑出血和脑水肿,并对神经元有不同程度的毒性作用。

MMP-9 是 MMPs 家族成员之一,主要由 T 细胞、中性粒细胞、血管内皮细胞、星形胶质细胞、小胶质细胞等分泌,其底物主要包括明胶、弹性蛋白、黏结蛋白及 IV、V 型胶原等^[9]。MMP-9 是 AS 病变进展的独立预测因子,是影响斑块稳定性和导致斑块破裂的关键因素之一。MMP-9 可降解血管基底膜的主要成分,与 AS 的发生、发展密切相关。Gidday 等^[10]发现,大鼠局部脑缺血 4 h 后,缺血脑组织内 MMP-9 水平上升,同时出现血脑屏障破坏及脑水肿形成。Serana 等^[11]提出了 CIS 发病机制的“细胞外基质破坏”学说,认为维持细胞外基质完整性可有效缓解血管性水肿及神经元缺血坏死,而 MMP-9 表达增加是 CIS 发病的主要病理生理基础之一。研究显示^[12],MMP-9 通过降解脑血管周围基底膜主要成分(IV 型胶原、层黏连蛋白和纤黏连蛋白),在 CIS 及继发性脑水肿、脑疝形成、出血转化等病理过程中起着重要作用。相关研究显示,ACIS 患者血浆 MMP-9 水平明显高于健康者,说明 MMP-9 参与了 ACIS 的发生,是导致 ACIS 的危险因素,与其发病风险呈正相关^[13]。

4 S100 β 蛋白

S100 β 蛋白是一种酸性钙结合蛋白,因能溶解在 100% 硫酸铵中而得名。S100 β 作为一种神经组织蛋白,主要存在于中枢神经系统的神经胶质细胞、星形胶质细胞、少突胶质细胞、小胶质细胞和大胶质细胞中,也是星形胶质细胞激活的标志^[14]。当神经元细胞结构受损时,S100 β 蛋白释放入脑脊液并通过血脑屏障进入血液,使血液中 S100 β 蛋白浓度升高,且不受溶血干扰,十分稳定^[15]。在非神经系统破坏性疾患者的脑脊液和血清中,S100 β 蛋白含量极低。脑损伤时,被破坏的神经元、星形细胞、小胶质细胞可释放 S100 β 蛋白,而 S100 β 蛋白可通过急性胶质反应,参与损伤部位的修复。S100 β 蛋白的可溶性使其能通过细胞间液进入脑脊液或穿过受损的血脑屏障进入血液。血液 S100 β 蛋白含量增高可能与缺血导致胶质细胞坏死、活化、合成 S100 β 蛋白增多,以及血脑屏障被破坏有关。相关研究显示,ACIS 患者血浆 S100 β 蛋白水平明显高于健康者,提示血液 S100 β 蛋白水平的测定,可用于判断 CIS 病变范围大小及预后评估,是早期评估神经缺损程度的可靠指标^[16-17]。

5 胶质纤维酸性蛋白(GFAP)

GFAP 最早发现于慢性多发性硬化症患者的白质斑块,被认为是星形胶质细胞的成熟标志。正常情况下,血清 GFAP 水平较低且保持稳定;当中枢神经系统发生急性损伤时,GFAP 从受损的星形胶质细胞溢出,进入细胞间隙,通过血脑屏障进入血液。GFAP 是构成星形胶质细胞的主要细胞骨架蛋白,相对分子质量 50×10^3 ,其表达水平与星形胶质细胞的功能状态有关。GFAP 的表达受多种生理、病理因素影响,其水平增高是中枢神经系统及星形胶质细胞受损的最常见特征性反应之一,已成为应用较为广泛的星形胶质细胞标记物之一。GFAP 具有维持星形细胞形态和功能的作用:GFAP 可在细胞核和细胞膜之间形成连接,参与细胞骨架重组、细胞黏附,维持脑内髓鞘形成和神经元的结构,并参与细胞信号转导等。正常情况下,星形胶质细胞是中枢神经系统的主要胶质细胞,对神经细胞起保护、支持及参与代谢的作用。脊髓受损后,星形胶质细胞出现明显的功能活跃及胶质化,表现为肥大、突起

增多,并分泌研发成纤维细胞生长因子(bFGF)、基膜素等多种诱导因子促进神经再生^[18]。研究显示,ACIS 患者血液 GFAP 水平明显高于健康者,且与梗死体积和神经功能缺损程度显著相关^[19]。

6 髓鞘碱性蛋白(MBP)

MBP 是髓鞘蛋白主要成分之一,在中枢神经系统由少突胶质细胞合成,在周围神经系统由雪旺氏细胞合成,在髓鞘的形成中起重要作用,并可维持髓鞘结构和功能的稳定。各种原因导致的髓鞘破坏均可导致血液或脑脊液 MBP 浓度增高,血液和脑脊液 MBP 水平在一定程度上反映了中枢神经系统有无实质性病变及病变范围,尤其是反映有无髓鞘脱失的较为特异的指标。相关研究表明:(1)CIS 发病早期(3~7 d),患者血浆 MBP 水平高于健康者,而 10 d 后,其水平和健康者无明显差别。这是由于 CIS 损伤累及髓鞘,MBP 释放入脑脊液,当血脑屏障受损或功能障碍时,MBP 可进入血液。(2)CIS 发病早期,患者血液 MBP 浓度,尤其是峰值浓度,与神经功能缺失程度(NIHSS 评分)及梗死范围呈显著正相关。CIS 发病后,缺血核心区的髓鞘迅速释放 MBP,如果缺血得不到改善,半暗带区的髓鞘也会发生坏死,并参与梗死周围区的炎性反应。梗死范围越大、病情越重,这种效应就越明显,MBP 的浓度也就越高。血液 MBP 水平与髓鞘受损程度和范围呈正相关。经治疗后,缺血、缺氧得以改善,患者临床症状好转,血液 MBP 浓度也显著下降,进一步说明 CIS 患者血液 MBP 浓度升高是由于缺氧导致的髓鞘损伤所致。(3)CIS 患者梗死部位不同,MBP 浓度升高程度亦不同:基底节区受损时升高程度最高,脑干受损时最低。这是因为基底节区病灶的受损范围常常较广,髓鞘受累严重,蛋白更容易释放至血液和脑脊液中^[20-21]。

7 小 结

CIS 生物标志物在临床决策中将成为独立的预测指标,测定 CIS 生物标志物水平有助于疾病的预测和早期诊断,可明显降低发病率、致残率、复发率。不同生物标志物的联合检测能更好、更全面地发挥其临床作用。

参考文献

- [1] Davidson MH, Corson MA, Alberts MJ, et al. Consensus panel recommendations for incorporating lipoprotein-associated phospholipase A2 testing into cardiovascular disease risk assessment guidelines[J]. Am J Cardiol, 2008, 101(12A): 51-57.
- [2] Möckel M, Müller R, Vollert JO, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 for early risk stratification in patients with suspected acute coronary syndrome: a multi-marker approach: the North Wuerttemberg and Berlin Infarction Study- II (NOBIS- II) [J]. Clin Res Cardiol, 2007, 96(9): 604-612.
- [3] 金艳, 张春和, 刘景霞, 等. 脂蛋白相关磷脂酶 A2 与急性缺血性脑卒中的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(1): 29-30.
- [4] Oei HH, van der Meer IM, Hofman A, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity is associated with risk of coronary heart disease and ischemic stroke: the Rotterdam Study[J]. Circulation, 2005, 111(5): 570-575.
- [5] Kielstein JT, Fliser D, Veldink H. Asymmetric dimethylarginine and symmetric dimethylarginine: axis of evil or useful alliance [J]. Semin Dial, 2009, 22(1): 346-350.
- [6] López-Jaramillo P, Arenas WD, Garcá RG, et al. The role of the L-arginine-nitric oxide pathway in preeclampsia[J]. Ther Adv Cardiovasc Dis, 2008, 2(4): 261-275.
- [7] Jia SJ, Zhou Z, Zhang BK, et al. Asymmetric dimethylarginine

- damages connexin43-mediated endothelial gap junction intercellular communication[J]. *Biochem Cell Biol*, 2009, 87(2):867-874.
- [8] Leong T, Zylberstein D, Graham I, et al. Asymmetric dimethyl-arginine independently predicts fatal and nonfatal myocardial infarction and stroke in women 24-year follow-up of the population study of women in Gothenburg[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(7):1-6.
- [9] Xue M, Hollenberg MD, Yong VW. Combination of thrombin and matrix metalloproteinase-9 exacerbates neurotoxicity in cell culture and intracerebral hemorrhage in mice[J]. *J Neurosci*, 2006, 26(40):10281-10291.
- [10] Gidday JM, Gasche YG, Copin JC, et al. Leukocyte-derived matrix metalloproteinase-9 mediates blood-brain barrier breakdown and is pro-inflammatory after transient focal cerebral ischemia[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 289(4):558-568.
- [11] Serena J, Blaneo M, Castellanos M, et al. The prediction of malignant cerebral infarction by molecular brain barrier disruption markers[J]. *Stroke*, 2005, 36(9):1921-1926.
- [12] Rosell A, Ortega-Aznar A, Alvarez-Sabín J, et al. Increased brain expression of matrix metalloproteinase-9 after ischemic and hemorrhagic human stroke[J]. *Stroke*, 2006, 37(6):1399-1406.
- [13] 李志, 刘卉萍, 张谨, 等. 急性脑梗死患者血清基质金属蛋白酶-9 和同型半胱氨酸检测的临床价值[J]. *国际检验医学杂志*, 2011, 32(6):653-654.
- [14] Marenholz I, Heizmann CW. S100A16, a ubiquitously expressed EF-hand protein which is up-regulated in tumors[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 313(2):237-244.
- [15] Kapural M, Krizanac-Bengez L, Barnett G, et al. Serum S-100beta as a possible marker of blood-brain barrier disruption[J]. *Brain Res*, 2002, 94(2):102-104.
- [16] 李志, 王青, 张婷婷, 等. 急性脑梗死患者血清 S-100b 蛋白和基质金属蛋白酶-2 的含量检测及临床意义[J]. *国际检验医学杂志*, 2011, 32(14):1569-1570.
- [17] Naeimi ZS, Weinhofer A, Sarahrudi K, et al. Predictive value of S-100B protein and neuron specific-enolase as markers of traumatic brain damage in clinical use[J]. *Brain Inj*, 2006, 20(5):463-468.
- [18] Cheng H, Wu JP, Zeng SF. Neuroprotection of glial cell line-derived neurotrophic factor in damaged spinal cords following contusive injury[J]. *J Neurosci Res*, 2002, 69(3):397-408.
- [19] Wunderlich MT, Wallesch CW, Goertler M. Release of glial fibrillary acidic protein is related to the neurovascular status in acute ischemic stroke[J]. *Eur J Neurol*, 2006, 13(10):1118-1123.
- [20] Hill MD, Jackowski G, Bayer N, et al. Biochemical markers in acute ischemic stroke[J]. *CMAJ*, 2000, 162(8):1139-1140.
- [21] Hirashima Y, Endo S, Nakamura S, et al. Cerebrospinal fluid membrane-bound tissue factor and myelin basic protein in the course of vasospasm after subarachnoid hemorrhage[J]. *Neurol Res*, 2001, 23(7):715-720.

(收稿日期:2012-01-09)

• 综 述 •

人附睾蛋白 4 在卵巢癌中的应用研究进展

陈静波[△]综述, 崔清潭 审校

(解放军第 313 医院检验科, 辽宁葫芦岛 125000)

关键词: 卵巢肿瘤; 生物学标记; 人附睾蛋白 4; 综述

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.18.029

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)18-2233-03

恶性肿瘤的早期诊断是肿瘤治疗的关键,而恶性肿瘤的发生和发展,首先表现为血清学指标(如各种细胞因子)异常,发展到一定阶段后才出现影像学异常和临床症状,故血清学检测具有独特的优势。人附睾蛋白 4(HE4)最早发现于人附睾精曲小管及输精管内皮,后来发现其在卵巢上皮癌中有所表达。目前的研究认为 HE4 可用于妇科恶性肿瘤,尤其是卵巢癌的早期诊断及预后评估^[1-4]。现就 HE4 在卵巢癌诊断及预后评估中的应用研究进行综述。

1 HE4 的结构

Kirchhof 等^[1,5] 从人附睾远端上皮细胞中首先克隆获得 HE4 编码基因的 cDNA。该编码基因位于染色体 20q12-13.1,全长约 12 kb,包括 5 个外显子和 4 个内含子,并有多重剪切方式,可编码小分子分泌蛋白 HE4、SLPI、Elafin 等。HE4 为相对分子质量 11×10^3 、等电点 4.3 的小分子弱酸性蛋白,含有 2 个高度保守的乳清酸性蛋白(WAP)结构域,属于乳清酸性蛋白家族(WFDC)。WAP 结构域含有 8 个半胱氨酸组成的 4 个二硫键核心区域,因此又称 WFDC2。该结构域中有 1 个抑制性环结构,可通过插入蛋白酶活性区而抑制蛋白酶活性。HE4 的氨基酸序列与生殖道分泌物中的细胞外蛋白酶抑制剂相似,因此推断 HE4 可能与精子成熟有关^[6]。

早期研究发现,卵巢癌组织高表达 HE4,而癌旁组织不表达,且肺癌、肝癌、肾癌、甲状腺癌等癌组织中也未见表达^[7-9]。然而,也有研究证实正常组织可少量表达 HE4,可能与检测方法的灵敏度不同有关^[6]。目前还未完全明确 HE4 的生理功能。由于 HE4 与 WAP 具有相似性,因此有学者推测 HE4 可能是参与肺组织宿主防御反应及精子发生过程的一种蛋白酶抑制剂。然而也研究显示,HE4 的表达并不受肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、脂多糖(LPS)、白细胞介素 1β (IL- 1β) 等前炎症反应介质刺激的影响,且未检出 HE4 具有任何蛋白酶抑制剂的生物活性^[10-11]。

2 HE4 与卵巢癌

卵巢癌发病率仅次于宫颈癌和子宫内膜癌,因发病隐匿、早期诊断率低,导致其致死率占妇科肿瘤的首位^[12]。但如果早期发现,其 5 年生存率可达 80%~90%,故早期诊断对改善卵巢癌患者预后非常重要。在众多可用于卵巢癌诊断的肿瘤标志物中,CA125 是惟一得到公认的。但女性处于月经期或妊娠期及部分卵巢良性肿瘤均可导致血清 CA125 水平升高,因此 CA125 诊断卵巢癌的灵敏度较高而特异性较差,在临床应用中尚有局限性^[13]。

2.1 HE4 与卵巢癌的诊断 Schummer 等^[8] 于 1999 年证实

[△] 通讯作者, E-mail: jingboc@163.com。