

- 理委员会. GB/T16483, 化学品安全技术说明书 内容和项目顺序 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [5] 中华人民共和国国家质量技术监督局. GB18280-2007, 医疗保健产品灭菌-确认和常规控制要求-辐照灭菌[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
- [6] 中华人民共和国国家食品药品监督管理局. YY0314-2007, 一次性使用人体静脉血样采集容器[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
- [7] 杨静, 周强, 郭鲁靖. 两种 EDTA 管在检测血常规指标上的差异性分析[J]. 医学检验与临床, 2007, 18(3): 86-88.
- [8] 舒旷怡, 许锴, 陈小剑. EDTA-K₂ 抗凝血在血沉检测中的应用[J]. 现代中西医结合杂志, 2007, 16(24): 3543-3544.
- [9] 栗军, 朱新勤, 王仲琼, 等. 国产 EDTA-K₂ 真空采血管的临床试用[J]. 华西医学, 2001, 16(2): 218-219.
- [10] 赵翠霞. 影响凝血试验测定结果因素的探讨[J]. 实用医技杂志, 2006, 13(15): 2652-2653.
- [11] 张伦军, 丁晓琳, 陈庆书, 等. 分离胶采血管对部分临床生化检验测定结果的影响[J]. 中华全科医学, 2010, 8(6): 773, 777.
- [12] 李勇, 陈大宁, 庄一义, 等. 分离胶制备的血清对常规生化指标测定结果的影响[J]. 临床检验杂志, 2002, 20(4): 226-227.

- [13] 闫存玲, 李志艳, 燕容, 等. 分离胶采血管制备血清对血糖、补体 C3 和 NSE 测定结果及稳定性的影响[J]. 检验医学, 2009, 24(4): 260-263.
- [14] 柴永. 正确地认识和使用过程能力指数 Cp 和 Cpk[J]. 中国质量, 2007(2): 77-82.
- [15] 肖华勇. 肝素锂真空采血管内混入乙二醇四乙酸-2k 抗凝血液对血液生化检测结果的影响[J]. 实用医技杂志, 2010, 17(11): 24-26.
- [16] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. WS/T 225-2002, 临床化学检验血液标本的收集与处理[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
- [17] 陈玲, 牛华, 董云华, 等. 不同混匀时间对血细胞分析新鲜血定值结果的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(10): 1245-1247.
- [18] 王涛. 抗凝混匀不均血液标本对细胞计数的影响[J]. 中外医学研究, 2011, 9(34): 153-154.

(收稿日期: 2013-10-25)

• 综 述 •

趋化因子 CC 族受体 2 与动脉粥样硬化关系的研究进展

陈立强¹, 王洋洋¹, 林妙芬² 综述, 梁洁玲¹, 李海珠¹ 审校

(1. 广东省肇庆市第一人民医院检验科, 广东肇庆 526060; 2. 广东医学院, 广东东莞 523808)

关键词: 动脉粥样硬化; 趋化因子受体; 单核细胞趋化蛋白-1

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.07.036

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)07-0883-03

动脉粥样硬化(AS)是一种血管炎症进展性疾病,其所致的心、脑血管疾病是严重危害人类生命健康的疾病之一。AS形成的确切机制未明确,但主要围绕脂质浸润、血栓形成和损伤反应 3 种学说。趋化因子 CC 族受体 2(chemokine receptor, CCR2)与其配体单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)结合后产生的下游细胞信号通路对 AS 的发生早期,即外周血中的单核细胞泡沫化并向动脉壁内膜损伤部位迁移、聚集、黏附及活化有重要作用,故 CCR2 与 AS 的发生与发展密切相关。本文对国内外关于 CCR2 在 AS 发生发展中的作用及研究进展进行综述。

1 CCR2 的基本特征

CCR2 属于 G 蛋白偶联受体,该受体均含有 7 个疏水性穿膜区段的单链受体,均由 3 个功能区,即胞外区(趋化因子结构区)、跨膜区(疏水性氨基酸富含区)和胞内区(信号转导区)组成,其 C 端区域位于胞质,含有多个丝氨酸和苏氨酸(Ser/Thr)的磷酸化部位,丝氨酸和苏氨酸的磷酸化作用激活受体下游的细胞信号通路^[1-3]。其基因定位于 3 号染色体,相对分子质量为 41×10^3 ,编码由 355 个氨基酸残基组成的蛋白,可以表达于单核细胞、血管内皮细胞、平滑肌细胞、嗜碱性粒细胞、自然杀伤细胞和 T 细胞等。由于剪切方式不同,CCR2 分为 CCR2A 和 CCR2B 两种亚型。CCR2A 只与 MCP-1 特异性结合,而 CCR2B 除了与 MCP-1 结合外,还可与 MCP-2、MCP-3 和 MCP-4 结合,而 CCR2B 是单核细胞主要的趋化因子受体^[4-6]。

2 CCR2 及其信号转导机制

CCR2 与 MCP-1 结合后通过细胞膜上 G 蛋白偶联受体的磷脂酰肌醇途径产生一系列反应,从而引起靶细胞效应,参与机体许多生理功能的调节。其信号传递过程包括:(1)配体与受体结合;(2)受体活化 G 蛋白;(3)G 蛋白激活或抑制细胞中的效应分子;(4)效应分子改变细胞内信使的含量与分布;(5)细胞内信使作用于相应的靶分子,从而改变细胞的代谢过程及基因表达等功能^[7-8]。目前研究发现,CCR2 信号转导机制可能通过依赖于 G 蛋白的亚单位,去直接抑制腺苷酸环化酶的活性,减少细胞内 cAMP 水平,还可能通过活化磷脂酶 C 而增加三磷酸肌醇(IP₃)和甘油二酯(DAG)的产生,进而活化蛋白激酶 C,并引起胞质内 Ca²⁺ 水平升高^[9-10]。也有研究发现,酪氨酸激酶和丝氨酸蛋白酶诱导的受体降解与 MCP-1 激活 CCR2 后引起的下调有关,蛋白激酶 C β 在受体后的信号传导途径中起作用^[11-13]。

3 CCR2 与 AS 的关系

3.1 CCR2 在调节内皮增生中的作用 CCR2 对于 AS 发生发展所起重要作用的直接证据来源于对 CCR2 基因缺失小鼠的研究,通过对 CCR2 基因敲除小鼠股动脉损伤的研究,发现 CCR2^{-/-} 小鼠动脉损伤处周围内膜面积比 CCR2^{+/+} 的小鼠内膜面积小,其内皮/中层比值也比 CCR2^{+/+} 的小鼠低,说明 CCR2 的缺失具有削减内皮增生的作用。而对 CCR2^{-/-} 和 CCR2^{+/+} 两种基因型的小鼠进行动脉损伤之后发现 CCR2^{-/-} 小鼠的内膜增生较 CCR2^{+/+} 小鼠明显减少,由此认为 MCP-1/CCR2 通路在 AS 斑块内血管平滑肌细胞增殖和迁移过程中发

生中发挥关键作用^[14-18]。CCR2 缺失小鼠会抑制小动脉的生长,却促进小静脉的生长,从而推断 CCR2 可能对小动脉和小静脉的生长有调控作用,故其对微血管的重建起重要作用^[19]。综上所述,CCR2 具有调节内皮增生的作用。

3.2 CCR2 在 AS 斑块形成中的作用 研究发现,从高血脂症患者外周血分离的单核细胞上 CCR2 mRNA 的表达较健康人群高两倍,说明高血脂能够显著上调血液循环中单核细胞表面 CCR2 的表达,这也许会对单核细胞向血管壁处的募集起到一定的作用,更进一步提示 CCR2 可能在人类动脉粥样硬化斑块的形成中起重要作用^[20]。CCR2 反义寡核苷酸转染人内皮细胞(hVECs)48 h 后,可明显降低 CCR2 蛋白的表达,抑制 MCP 诱导的 hVECs 凋亡,并且加入 CCR2 阻断剂(RS102895)后细胞凋亡测定结果也是抑制 MCP 诱导的 hVECs 凋亡。上述结果证明 CCR2 介导了 MCP-1 诱导 hVECs 的凋亡,内皮细胞凋亡是 AS 发生的第一步,凋亡内皮细胞的增加容易改变内皮的完整性及其功能,从而诱发 AS^[21-23]。研究发现,在转染 CCR2 的 GCH/ApoE-KO 小鼠血管组织和血浆样品中四氢生物蝶呤(BH4)的浓度明显低于转染 CCR2 的 ApoE-KO 小鼠,而转染 CCR5 的 GCH/ApoE-KO 小鼠血管组织和血浆样品中 BH4 的浓度与转染 CCR5 的 ApoE-KO 小鼠没有明显差异,表明 CCR2 可以抑制 BH4 的抗炎和抗血管损伤的作用,加速 AS 的发生^[24-26]。在由血管紧张素 II 诱导的 ApoE^{-/-} 小鼠模型中,GSK1344386B 组(使用 GSK1344386B)的血清 MCP-1 浓度水平较 Vehile 组(未使用 GSK1344386B)的高,招募的巨噬细胞数量较 Vehile 组(未使用 GSK1344386B)的少,CCR2 拮抗剂——GSK1344386B 可减少单核细胞/巨噬细胞在加速动脉粥样硬化病变发展的小鼠模型主动脉的浸润,表明 CCR2 在 AS 的发生中发挥了重要作用^[27]。研究发现,丙帕锗和吡格列酮分别通过选择性地抑制 CCR2 去抑制单核细胞的迁移和通过抑制局部和循环中的单核细胞 CCR2 的表达去影响 MCP-1/CCR2 通路,减少冠状动脉单核细胞的浸润,最终抑制 AS 的形成。利用抗 CCR2 抗体对血管损伤的小鼠的作用进行动物实验,发现血管损伤处的单核细胞和巨噬细胞数量明显减少,说明抗 CCR2 抗体有防止形成 AS 斑块的作用^[28-31]。

4 结 语

目前,炎症反应在 AS 的起始、进展、斑块的破裂及血栓形成等全过程中所起的关键性作用已得到广泛共识,炎症反应中涉及大量的趋化因子及其受体,CCR2 通过其下游产生的细胞信号通路介导了炎症反应的发生。

综上所述,CCR2 与人类 AS 的发生、发展有着密切关系,对 CCR2 的进一步深入研究,将会丰富 AS 的发病机制的理论基础,针对 CCR2 进行治疗,将在 AS 的治疗中具有广泛的前景。

参考文献

[1] 梁洁玲,王洋洋,卢玉贞,等.单核细胞趋化蛋白-1 与动脉粥样硬化形成机制研究进展[J].国际检验医学杂志,2013,34(14):1844-1845.

[2] Izumi K,Fang LY,Mizokami A,et al.Targeting the androgen receptor with siRNA promotes prostate cancer metastasis through enhanced macrophage recruitment via CCL2/CCR2-induced STAT3 activation[J].EMBO Mol Med,2013,5(9):1383-1401.

[3] Okamoto M,Suzuki T,Watanabe N.Modulation of inflammatory pain in response to a CCR2/CCR5 antagonist in rodent model[J].

J Pharmacol Pharmacother,2013,4(3):208-210.

[4] Miller RE,Tran PB,Das R,et al.CCR2 chemokine receptor signaling mediates pain in experimental osteoarthritis[J].Proc Natl Acad Sci U S A,2012,109(50):20602-20607.

[5] Tabas I.Macrophage death and defective inflammation resolution in atherosclerosis[J].Nat Rev Immunol,2010,10(1):36-46.

[6] Meisner JK,Song J,Price RJ.Arteriolar and venular remodeling are differentially regulated by bone marrow-derived cell-specific CX3CR1 and CCR2 expression [J].PLoS One,2012,7(9):e46312.

[7] Lee SH,Kang HY,Kim KS,et al.The monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)/CCR2 system is involved in peritoneal dialysis-related epithelial-mesenchymal transition of peritoneal mesothelial cells[J].Lab Invest,2012,92(12):1698-1711.

[8] Tsuboi N,Inoue T,Kawai M,et al.The effect of monocyte chemoattractant protein-1/CC chemokine ligand 2 on aqueous humor outflow facility [J].Invest Ophthalmol Vis Sci,2012,53(10):6702-6707.

[9] Ziad A,Ali,Christina A,Bursill,Gillian Douglas,et al.CCR2-Mediated Antiinflammatory Effects of Endothelial Tetrahydrobiopterin Inhibit Vascular Injury-Induced Accelerated atherosclerosis [J].Circulation,2008,118(14):S71-77.

[10] Zeng L,Zampetaki A,Vlgariti A,et al.Sustained activation of XBPI splicing leads to endothelial apoptosis and atherosclerosis development in response to disturbed Flow[J].Proc Natl Acad Sci L S A,2009,106(20):8326-8331.

[11] Gilbert J,Lekstrom-Mimes J,Donaldson D,et al.Effect of CC chemokine receptor 2 CCR2 blockade on serum C-reactive protein in individuals at atherosclerotic risk and with a single nucleotide polymorphism of the monocyte chemoattractant proteins promoter region [J].Am J Cardiol,2011,107(6):906-110.

[12] Luo W,Diaz FJ,Wiltbank MC.Induction of mRNA for chemokines and chemokine receptors by prostaglandin F2 α is dependent upon stage of the porcine corpus luteum and intraluteal progesterone[J].Endocrinology,2011,152(7):2797-2805.

[13] Tabas I,Ron D.Integrating the mechanisms of apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress[J].Nat Cell Biol,2011,13(3):184-190.

[14] Gautier EL,Jakubzick C,Randolph GJ.Regulation of the migration and survival of monocyte subsets by chemokine receptors and its relevance to atherosclerosis[J].Arterioscler Thromb Vasc Biol,2009,29(10):1412-1418.

[15] Futagami S,Hiratsuka T,Shindo T,et al.COX-2 and CCR2 induced by CD40 ligand and MCP-1 are linked to VEGF production in endothelial cells [J].Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids,2008,78(2):137-146.

[16] Norata GD,Marchesi P,Passamonti S,et al.Anti-inflammatory and anti-atherogenic effects of catechin, caffeic acid and trans-resveratrol in apolipoprotein E deficient mice[J].Atherosclerosis,2007,191(2):265-271.

[17] Kang YS, Lee MH, Song HK, et al. CCR2 antagonism improves insulin resistance, lipid metabolism, and diabetic nephropathy in type 2 diabetic mice[J].KidneyInt,2010,78(9):883-894.

[18] Navarro-González JF,Mora-Fernández C,Muros de Fuentes M,et al.Inflammatory molecules and pathways in the pathogenesis of diabetic nephropathy [J].Nat Rev Nephrol,2011,7(6):327-340.

[19] Sayyed SG,Ryu M,Kulkarni OP,et al.An orally active chemokine receptor CCR2 antagonist prevents glomerulosclerosis and

renal failure in type 2 diabetes [J]. *Kidney Int*, 2011, 80 (1): 68-78.

[20] Olzinski R, Turner GH, Bernard RE, et al. Pharmacological Inhibition of C-C Chemokine Receptor 2 Decreases Macrophage Infiltration in the Aortic Root of the Human C-C Chemokine Receptor 2/Apolipoprotein E^{-/-} Mouse: Magnetic Resonance Imaging Assessment Hypercholesterolemic [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(2): 253-259.

[21] Uchida Y, Maezawa Y, Tabata T, et al. Migration of mononuclear cells expressing β -actin through the adventitia into media and intima in coronary arteriogenesis and venogenesis in ischemic myocardium [J]. *Int Heart J*, 2012, 53(1): 54-63.

[22] Zhang S, Wang X, Zhang L, et al. Characterization of monocyte chemoattractant proteins and CC chemokine receptor 2 expression during atherogenesis in apolipoprotein E-null mice [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2011, 18(10): 846-856.

[23] 徐艳, 刘喜平, 李琴山, 等. CCR2 介导 MCP 诱导的人内皮细胞凋亡 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2010, 26 (4): 356-361.

[24] Saederup N, Chan L, Liras A, et al. Fractalkine deficiency markedly reduces macrophage accumulation and atherosclerotic lesion formation in CCR2^{-/-} mice: evidence for independent chemokine functions in atherogenesis [J]. *Circulation*, 2008, 117 (13): 1642-1648.

[25] Koenen RR, Weber C. Therapeutic targeting of chemokine interactions in atherosclerosis [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2010, 9 (2): 141-153.

[26] Laborde E, Macsata RW, Meng F, et al. Discovery, optimization, and pharmacological characterization of novel heteroarylphenylureas antagonists of C-C chemokine ligand 2 function [J]. *Med*

Chem, 2011, 54(6): 1667-1681.

[27] Tabas I. The role of endoplasmic reticulum stress in the progression of atherosclerosis [J]. *Circ Res*, 2010, 107 (7): 839-850.

[28] Aiello RJ, Perry BD, Bourassa P-A, et al. CCR2 receptor blockade alters blood monocyte subpopulations but does not affect atherosclerotic lesions in apoE^{-/-} mice [J]. *Atherosclerosis*, 2010, 208 (2): 370-375.

[29] Ley K, Miller YI, Hedrick CC. Monocyte and Macrophage dynamics during atherogenesis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(7): 1506-1516.

[30] Meisner JK, Price RJ. Spatial and temporal coordination of bone marrow-derived cell activity during arteriogenesis: regulation of the endogenous response and therapeutic implications [J]. *Microcirculation*, 2010, 17(8): 583-599.

[31] Jerath MR, Liu P, Struthers M, et al. Dual targeting of CCR2 and CX3CR1 in an arterial injury model of vascular inflammation [J]. *Thromb J*, 2010, 8(5): 14-15.

[32] Anzinger JJ, Chang J, Xu Q, et al. Native low-density lipoprotein uptake by macrophage colony-stimulating factor-differentiated human macrophages is mediated by macropinocytosis and micropinocytosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30 (10): 2022-2031.

[33] Okamoto M, Fuchigami M, Suzuki T, et al. A novel C-C chemokine receptor 2 antagonist prevents progression of albuminuria and atherosclerosis in mouse models [J]. *Biol Pharm Bull*, 2012, 35 (11) 2069-2074.

(收稿日期: 2013-06-08)

• 综 述 •

甲型肝炎的实验室诊断检测方法研究进展

杨璐综述, 杨红英 审校

(昆明医科大学第二附属医院检验科, 云南昆明 650101)

关键词: 甲型病毒性肝炎; 检测方法; 免疫机制

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 07. 037

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)07-0885-03

甲型病毒性肝炎简称甲肝, 是一种由甲型肝炎病毒 (HAV) 感染引起的以肝脏炎症病变为主的传染病, 主要通过粪-口途径传播。其病程呈自限性, 引起急性重型肝炎者极为少见, 随着灭活疫苗在全世界的使用, 甲型肝炎的流行已得到有效的控制^[1-2]。

1 病原学

甲肝是一种急性病毒感染性肝炎。1974 年 Feinstone 等^[3]通过免疫电镜技术在甲肝患者粪便中发现甲型肝炎病毒 (HAV)。甲型肝炎病毒是直径为 27~32 nm 的小 RNA 病毒, 其结构含有 VP1~VP4 四种多肽, 基因组为单股正链 RNA, 约 7 500 个核苷酸。HAV 对酸、热 (60 °C 1 h), 以及乙醚、氯仿等有机溶液作用稳定, 但加热 100 °C 5 min 可使其灭活。

2 甲肝的公共卫生管理

HAV 的传播途径为粪-口途径, 主要在发展中国家流行。通过对公共卫生环境的管理和自我保健意识的改善提高, 在过

去的几十年中西方国家 HAV 的感染率得到有效的控制^[4-5]。提高人群的免疫水平是预防甲肝的主要措施, 随着甲肝灭活疫苗应用覆盖面不断扩大, 甲肝地区流行强度逐年明显减弱, 甲肝疫苗应用于控制甲肝流行在实践中得到许多专家的认可。

3 甲肝的免疫机制

在甲肝急性期患者血清中可以查出抗-HAV IgM 及 IgG, 患者患病后 2 周抗-HAV IgM 阳性率为 100%, 持续 2~3 周, 然后迅速下降。因此, 检测抗-HAV IgM 可作为急性期的诊断指标。抗-HAV IgG 是甲肝的主要中和抗体, 一般可从病人血清中查出, 此种抗体存在于患者体内很长时间甚至终身^[6]。

4 甲肝的实验室诊断方法

4.1 甲肝抗原的实验室检测方法

4.1.1 RT-PCR 法 该方法灵敏度高, 特异性强。但需专门的仪器设备, 操作过程复杂, 操作需经专业培训的人员, 且由于 RNA 容易降解, 所以 RNA 的提取过程要求较严格。目前对