- signaling[J]. *J Cell Biol*, 2001, 155(4): 637-648.
- [12] Essmann F, Bantel H, Totzke G, et al. Staphylococcus aureus alpha-toxin-induced cell death: predominant necrosis despite apoptotic caspase activation[J]. *Cell Death Differ*, 2003, 10(11): 1260-1272.
- [13] Liang X, Ji Y. Involvement of alpha5beta1-integrin and TNF-alpha in Staphylococcus aureus alpha-toxin-induced death of epithelial cells[J]. *Cell Microbiol*, 2007, 9(7): 1809-1821.
- [14] Liang X, Ji Y. Alpha-toxin interferes with integrin-mediated adhesion and internalization of Staphylococcus aureus by epithelial cells[J]. *Cell Microbiol*, 2006, 8(10): 1656-1668.
- [15] Wilke GA, Bubeck Wardenburg J. Role of a disintegrin and metalloprotease 10 in Staphylococcus aureus alpha-hemolysin-mediated cellular injury[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107(30): 13473-13478.
- [16] Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. Exotoxins of staphylococcus aureus[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2000, 3(1): 16-34.
- [17] Song L, Hohaug MR, Shustak C, et al. Structure of staphylococcal hemolysin, a heptameric transmembrane pore[J]. *Science*, 1996, 274(5294): 1859-1866.
- [18] Blomqvist L, Thelestam M. Early events in the action of staphylococcal alpha toxin on the plasma membrane of adrenocortical YI tumor cells[J]. *Infect Immun*, 1986, 53(3): 636-640.
- [19] Löffler B, Hussain M, Grundmeier M, et al. Staphylococcus aureus panton-valentine leukocidin is a very potent cytotoxic factor for human neurophils[J]. *PLoS Pathog*, 2010, 6(1): 1000715.
- [20] Galdiero S, Gouaux E. High resolution crystallographic studies of alpha-hemolysin-phospholipid complexes define heptamer-lipid head group interactions; implication for understanding protein-lipid interactions[J]. *Protein Sci*, 2004, 13(6): 1503-1511.
- [21] Gow JA, Robinson J. Properties of purified staphylococcal beta-hemolysin[J]. *J Bacteriol*, 1969, 97(3): 1026-1032.
- [22] Wiseman GM. The nature of staphylococcal beta hemolysin. II. Effect on mammalian cells[J]. *Can J Microbiol*, 1968, 14(2): 179-181.
- [23] Dumont AL, Nygaard TK, Watkins RL, et al. Characterization of a new cytotoxin that contributes to Staphylococcus aureus pathogenesis[J]. *Mol Microbiol*, 2011, 79(3): 814-825.
- [24] Kobayashi SD, Deleo FR. An update on community-associated MRSA virulence[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2009, 9(5): 545-551.
- [25] Deurenberg RH, Stobberingh EE. The molecular evolution of hospital- and community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus[J]. *Curr Mol Med*, 2009, 9(2): 100-115.
- [26] Tristan A, Benito Y, Montserret R, et al. The signal peptide of Staphylococcus aureus panton valentine leukocidin LukS component mediates increased adhesion to heparan sulfates[J]. *PLoS One*, 2009, 4(4): 5042.
- [27] Kreger AS, Kim KS, Zaboretzky F, et al. Purification and properties of staphylococcal delta hemolysin[J]. *Infect Immun*, 1971, 3(3): 449-465.
- [28] Cheung GY, Duong AC, Otto M. Direct and synergistic hemolysis caused by Staphylococcus phenol-soluble modulins; implications for diagnosis and pathogenesis[J]. *Microbes Infect*, 2012, 14(4): 380-386.
- [29] Suttorp N, Habben E. Effect of staphylococcal alpha-toxin on intracellular Ca²⁺ in polymorphonuclear leukocytes[J]. *Infect Immun*, 1988, 56(9): 2228-2234.
- [30] Dolmetsch RE, Xu K, Lewis RS. Calcium oscillations increase the efficiency and specificity of gene expression[J]. *Nature*, 1998, 392(6679): 933-936.
- [31] Frantz B, Nordby EC, Bren G, et al. Calcineurin acts in synergy with PMA to inactivate I kappa B/MAD3, an inhibitor of NF-kappa B[J]. *EMBO J*, 1994, 13(4): 861-870.
- [32] Rose F, Dahlem G, Guthmann B, et al. Mediator Generation and signaling events in alveolar epithelial cells attacked by S-aureus alpha-toxin[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2002, 282(2): L207-L214.
- [33] Kloft N, Busch T, Neukirch C, et al. Pore-forming toxins activate MAPK p38 by causing loss of cellular Potassium[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 385(4): 503-506.
- [34] Ratner AJ, Hippe KR, Aguilar JL, et al. Epithelial cells are sensitive detectors of bacterial pore-forming toxins[J]. *Biol Chem*, 2006, 281(18): 12994-12998.
- [35] Brodsky IE, Monack D. NLR-mediated control of inflamma some assembly in the host response against bacterial pathogens[J]. *Semin Immunol*, 2009, 21(4): 199-207.
- [36] Miller LS, Pietras EM, Uricchio LH, et al. Inflammasome-mediated production of IL-1 beta is required for neutrophil recruitment against Staphylococcus aureus in vivo[J]. *J Immunol*, 2007, 179(10): 6933-6942.
- [37] Mariathasan S, Weiss DS, Newton K, et al. Cryopyrin activates the inflammasome in response to toxins and ATP[J]. *Nature*, 2006, 440(781): 228-232.

(收稿日期: 2014-05-16)

• 综 述 •

心力衰竭标志物中段肾上腺髓质素原测定的意义及应用前景

徐胜男 综述, 张秀明 审校

(中山市人民医院, 广东中山 528403)

关键词: 心力衰竭; 中段肾上腺髓质素原; 肾上腺髓质素

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.22.035

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)22-3082-03

肾上腺髓质素(ADM)是1993年日本学者由从肾上腺嗜铬细胞瘤的组织提取液中分离的一种血管活性多肽^[1]。目前研究表明, ADM具有扩张血管、降压、排钠、利尿、减少氧化应

激导致的血管内皮细胞凋亡、抑制血管平滑肌细胞迁移、对抗肾素-血管紧张素系统等多种生物学作用,可减少血管损伤,延缓动脉粥样硬化斑块形成,抑制血管重构。在高血压、急性心

肌梗死、心力衰竭和严重感染时,血浆肾上腺髓质素代偿性升高,在多种心血管疾病中发挥重要的保护作用。

1 ADM 的生物学特性和检测方法

1.1 ADM 的生物学特性 血浆中 ADM 主要来源于血管内皮细胞和血管平滑肌细胞。ADM 及其受体广泛分布于外周组织(肾上腺、肾脏、心脏、肺、胃肠道、生殖系统等)、中枢神经系统和血液中。除肾上腺髓质外,心肌细胞、血管平滑肌细胞、内皮细胞和成纤维细胞是 ADM 的主要来源。

目前发现多种细胞因子可调节 ADM 的生成和释放,如肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素-1a(IL-1a)可刺激内皮细胞(EC)、血管平滑肌细胞(VSMC)合成 ADM 增加,达到生理状态下的数倍到数十倍。内皮素-1(ET-1)、血小板源性生长因子(PDGF)及血管紧张素 II(Ang II)等,可促进心肌细胞、血管平滑肌细胞合成 ADM。另外,缺氧、血管剪切力降低及氧化应激等因素也可促进 ADM 的合成和释放。高龄患者血浆 ADM 水平高于年轻患者,可能与 ADM 维持年老患者血管紧张度的代偿性功能有关。早期的一些针对肾上腺髓质素的研究未能得到确定性结论,而现代检测系统通过分析 ADM 的稳定前体 MR-proADM,开始认同该指标对心血管疾病发生风险的预测价值^[2-3]。

1.2 ADM 与 MR-proADM 的测定 ADM 以旁分泌和自分泌的形式发挥功能,其受体多位于产生部位邻近的器官或组织,导致 ADM 在血浆中存在时间很短,其半衰期只有 22 min;另外,血浆中存在 ADM 的结合蛋白(补体因子 H),导致外周血中 ADM 的浓度很难被准确测定。ADM 的前体是含有 185 个氨基酸的多肽,该前体通过翻译后过程生成 ADM、肾上腺髓质素、中段肾上腺髓质素原和 ADM 前体羧基端区域。MR-proADM 这种存在形式最早在败血症患者的血浆中被证实,通过基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)的方法纯化得到,没有生成其他更小的肽段,说明 MR-proADM 在血浆中以更稳定的形式存在。可能正是因为 MR-proADM 是无功能的存在形式,不存在负反馈调节机制,在外周血中含量比较稳定,更适合作为一个诊断标志物。理论上由于 MR-proADM 的生成与 ADM 具有固定的计量比例关系,MR-proADM 在血浆中的浓度可直接反映 ADM 的浓度。由于患者血浆中的 ADM 浓度关系到患者的预后以及临床治疗方案的改变,确认 ADM 的初始分泌量尤其重要。不同个体之间以及不同病理状态下 ADM 测定的影响因素较多,测得的成熟 ADM 浓度可能较实际释放入血的具有强烈扩张血管作用的多肽浓度低很多。因此 MR-proADM 测定较 ADM 更具有技术上和临床应用方面的优势。

MR-proADM 的测定多采用双抗体夹心酶联免疫吸附试验(ELISA)法。该方法的检测灵敏度为 0.12 nmol/L,可检测的 MR-proADM 线性范围为 0.12~25 nmol/L。血浆 MR-proADM 在室温可保持稳定 72 h,4℃ 14 d,-20℃ 12 个月。抗凝剂对样本的稳定性基本无影响,少部分肝素抗凝血的 MR-proADM 测定值比 EDTA 抗凝血低,因此建议不要使用肝素抗凝血或是血清作此项检测^[4]。Morgenthaler 等^[5]收集了 264 名健康成人血浆的 MR-proADM 测定值,结果符合正态分布,均值(标准差)为 0.33(0.07) nmol/L,无性别差异,老年人的 MR-proADM 水平较高,日间 MR-proADM 水平十分稳定,不受进食或饮水的影响。

2 MR-proADM 与心力衰竭

2.1 ADM 在心力衰竭中的代偿机制 心力衰竭患者冠状静

脉窦 ADM 浓度高于主动脉 ADM 浓度,心包液中的 ADM 浓度远高于血浆浓度,表明心力衰竭时心肌产生 ADM 增加是导致循环中 ADM 增加的主要原因。用容量或负荷压力制造的不同动物的心力衰竭模型中,ADM 基因的表达均显著上调^[5]。在 Ang II、ET-1、心肌细胞机械牵拉和缺氧等多种机制参与下,衰竭的心肌细胞产生大量 ADM。提示在发生心力衰竭时,ADM 上调可能是一种代偿机制,可使心脏前后负荷降低,也可使衰竭的心肌细胞产生正性肌力作用,从而抑制心力衰竭的进一步恶化。同时,ADM 可通过减轻心肌肥厚,减少心肌成纤维细胞增殖和细胞外基质的产生而抑制心肌重构。同时,ADM 可以活化缩血管和钠潴留介质(如肾素-血管紧张素-醛固酮系统、交感神经系统和内皮素),与利钠肽共同对抗心力衰竭。给心力衰竭大鼠长期静脉注射 ADM 可使左室功能不全进展缓慢,并提高存活率,其机制至少部分与 ADM 抑制循环和心肌局部的神经激素激活有关。

临床试验亦表明,给心力衰竭患者静脉注射 ADM 可产生有益的血流动力学和神经激素反应,可使心输出量和左室射血分数增加,外周阻力,肺毛细血管楔压和左室舒张末压降低,并可扩张肾血管,使肾血流量增加,肾小管滤过率增加,从而产生利钠,利尿作用,并能降低血浆醛固酮和血管加压素水平。因此,ADM 或其特异性的受体激动剂很有可能在未来心力衰竭的治疗中占有一席之地。然而,也有少数的研究表明,ADM 的扩血管和利钠作用在心力衰竭时是削弱的。目前,这种“ADM 抵抗”的机制尚不清楚。

2.2 MR-proADM 对心血管疾病转归的预测价值 MR-proADM 水平的变化与冠心病死亡率的众多预测因子相关联,包括年龄、肾功能损伤^[6]、严重的心脑血管疾病史(如卒中)、高血压、肥胖、糖尿病等^[7-10]。

Wild 等^[11]在 LAMP(Leicester Acute Myocardial Infarction Peptide)实验中评估了 MR-proADM 水平对判断 ST 段抬高心肌梗死和非 ST 段抬高心肌梗死患者转归的预测价值。MR-proADM 水平较高的患者发生死亡或突发心力衰竭的风险更大。在 LAMP 实验中,样本采集时间为发生心肌梗死后 3~5 d,实验中 MR-proADM 水平反映的是心梗后早期的病理生理变化和心室重构过程,不适合作为稳定冠心病患者预后判断的依据。

Neumann 等^[12]随访了 2 240 例稳定心绞痛或急性冠脉综合征患者,评估 MR-proADM 对随访 4 年中心血管事件发生率的预测价值,结果表明,MR-proADM 浓度对非致死性心肌梗死的发生风险不具有预测价值。

Sabatine 等^[13]的研究结果表明,稳定性冠心病和射血分数保留的患者,反映心血管压力的生物标记物对于冠心病引发的死亡和突发性心力衰竭更具预测价值,而对心肌梗死和复合终点事件引起的冠心病死亡预测价值不大。

Funke-Kaiser 等^[14]主持了一项大型,随机,安慰剂作对照的 LIPID 实验,其研究方向为稳定冠心病患者血浆基线 MR-proADM 浓度及 1 年后的降幅对心血管疾病转归的预测价值。样本采集时间中位数为心肌梗死后 13.9 个月。该实验结果表明,MR-proADM 水平与后续发生的心血管事件存在关联,高水平的 MR-proADM 是未来发生主要冠心病事件的独立风险因子,尤其是冠心病死亡、心力衰竭和全因死亡率。另外,1 年后 MR-proADM 降幅较大的患者,发生冠心病事件的风险较小,主要由于发生非致死性心肌梗死的风险较小,导致较低的心力衰竭发生率和全因死亡率。

另外, LIPID 实验证实了 MR-proADM 与 BNP 浓度存在相关性, 而对 BNP 浓度进行校正后, MR-proADM 对疾病转归方向的预测价值仍然存在, 1 年后 MR-proADM 的降幅与后续事件诱发的住院率和死亡率仍存在高度关联。

除经典的导致冠心病死亡和心力衰竭的危险因素, MR-proADM 基线水平提供了鉴别诊断的依据, 但不适用于主要心血管事件或者心肌梗死的诊断, 相比原发终点心血管事件, MR-proADM 与后续心力衰竭发生的风险关联更强, 统计值 C 的绝对变化量较小, 将 1 年后血浆 MR-proADM 水平的变化量作为心力衰竭风险再次分层的依据, 其意义尤为重要, NRI 为 5.6%。

2.3 MR-proADM 可用于评估心力衰竭的治疗效果 LIPID 实验中, 患者接受普伐他汀治疗 1 年后, 其 MR-proADM 水平较对照组有了更为明显的下降, 然而该结果具有一定程度的随机性, 不足以据此来判断普伐他汀治疗会导致后续心血管事件发生的风险降低^[14]。

处于 MR-proADM 基线水平每个四分位范围内的患者, 普伐他汀的治疗效果没有明显差异; 然而随着 MR-proADM 浓度的升高, 所有终点事件的需治疗例数(NNT)降低, 因此, MR-proADM 基线水平越高的患者, 由于其患病风险更大, 接受治疗后获益更多。该研究结果表明, 对于 MR-proADM 升高明显的患者, 需要强化对发病风险因素的监控, 遵守二级预防策略, 积极的防范和治疗将使这一群体获得更理想的预后, 而 MR-proADM 对于治疗的指导意义仍需更多的实验数据来证实。

3 结论与展望

肾上腺髓质素作为一种心血管保护肽, 对高血压、冠心病、肺动脉高压、心功能不全、心肌缺血再灌注损伤及介入术后狭窄多种心血管疾病具有重要的代偿及防治作用。然而机体的各种病理生理过程是由多种神经、体液因子共同组成的网络调控的。ADM 与各种心血管疾病标志物在心血管疾病中的相互关系, 人体内外环境变化和药物等对肾上腺髓质素的影响, 以及人类肾上腺髓质素基因变异与各种疾病的关系都需要更多的实验数据来证实。

对于有急性冠脉综合征病史的稳定慢性心力衰竭患者, 测定基线 MR-proADM 水平有助于医生选择性密切监测患者发病的风险因素和潜在的并发症。同时可作为使用他汀类药物或按照循证医疗的原则采取其他强化治疗手段的指征。在此过程中, 如果监测到患者 MR-proADM 浓度发生明显变化, 可据此判断患者具备发生突发性心力衰竭的高风险因素。

心力衰竭是一个复杂的, 连锁的动态发展过程, 其诊断和分层不能单纯依赖病史分析和体格检查, 目前钠尿肽已被纳入心力衰竭管理指南, 未来的发展方向可能涉及同时分析多个有效的心力衰竭标志物。而对于 ADM 和 MR-proADM 与心力衰竭的相关性及其调节机制, 需要更多的临床和基础实验数据证实。

参考文献

[1] Chun TH, Itoh H, Ogawa Y, et al. Shear stress augments expression of C-type natriuretic peptide and adrenomedullin[J]. Hyper-

tension, 1997, 29(6): 1296-1302.

- [2] Richards AM, Nicholls MG, Yandle TG, et al. Plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide and adrenomedullin new neurohormonal predictors of left ventricular function and prognosis after myocardial infarction[J]. Circulation, 1998, 97(19): 1921-1929.
- [3] Katayama T, Nakashima H, Furudono S, et al. Evaluation of neurohumoral activation (adrenomedullin, BNP, catecholamines, etc.) in patients with acute myocardial infarction[J]. Intern Med, 2004, 43(11): 1015-1022.
- [4] Cueille C, Pidoux E, de Vernejoul MC, et al. Increased myocardial expression of RAMP1 and RAMP3 in rats with chronic heart failure[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2002, 294(2): 340-346.
- [5] Morgenthaler NG, Struck J, Alonso C, et al. Measurement of midregional proadrenomedullin in plasma with an immunoluminometric assay[J]. Clin Chem, 2005, 51(10): 1823-1829.
- [6] Bhandari SS, Davies JE, Struck J, et al. Influence of confounding factors on plasma mid-regional pro-adrenomedullin and mid-regional pro-A-type natriuretic peptide concentrations in healthy individuals[J]. Biomarkers, 2011, 16(3): 281-287.
- [7] Mason JM, Hancock HC, Close H, et al. Utility of biomarkers in the differential diagnosis of heart failure in older people: findings from the Heart Failure in Care Homes (HFinCH) diagnostic accuracy study[J]. PLoS One, 2013, 8(1): 53560.
- [8] Dhillon OS, Khan SQ, Narayan HK, et al. Prognostic value of mid-regional proadrenomedullin levels taken on admission and discharge in non-ST-elevation myocardial infarction: the LAMP (Leicester Acute Myocardial Infarction Peptide) II study[J]. J Am Coll Cardiol, 2010, 56(2): 125-133.
- [9] Rapsomaniki EI, Shah A, Perel P, et al. Prognostic models for stable coronary artery disease based on electronic health record cohort of 102 023 patients[J]. Eur Heart J, 2014, 35(13): 844-852.
- [10] Wong HK, Ong KL, Leung RY, et al. Plasma level of adrenomedullin is influenced by a single nucleotide polymorphism in the adiponectin gene[J]. PLoS One, 2013, 8(8): 70335.
- [11] Wild PS, Schnabel RB, Lubos E, et al. Midregional proadrenomedullin for prediction of cardiovascular events in coronary artery disease: results from the AtheroGene study[J]. Clin Chem, 2012, 58(1): 226-236.
- [12] Neumann JT, Tzikas S, Funke-Kaiser A, et al. Association of MR-proadrenomedullin with cardiovascular risk factors and subclinical cardiovascular disease[J]. Atherosclerosis, 2013, 228(2): 451-459.
- [13] Sabatine MS, Morrow DA, de Lemos JA, et al. Evaluation of multiple biomarkers of cardiovascular stress for risk prediction and guiding medical therapy in patients with stable coronary disease[J]. Circulation, 2012, 125(2): 233-240.
- [14] Funke-Kaiser A, Mann K, Colquhoun D, et al. Midregional proadrenomedullin and its change predicts recurrent major coronary events and heart failure in stable coronary heart disease patients: the LIPID study[J]. Int J Cardiol, 2014, 172(2): 411-418.

(收稿日期: 2014-06-18)