- esis in transgenic mice expressing a dominant-negative mutant of connexin32 only in the liver[J]. *Carcinogenesis*, 2004, 25(4): 483-492.
- [11] Leithe E, Sirnes S, Omori Y, et al. Downregulation of gap junctions in cancer cells[J]. *Crit Rev Oncog* 2006, 12(3-4): 225-256.
- [12] Mesnil M, Crespín S, Avanzo JL, et al. Defective gap junctional intercellular communication in the carcinogenic process[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2005, 1719(1-2): 125-145.
- [13] Mesnil M. Connexins and cancer[J]. *Biol Cell*, 2002, 94(7-8): 493-500.
- [14] Ito A, Katoh F, Kataoka TR, et al. A role for heterologous gap junctions between melanoma and endothelial cells in metastasis[J]. *J Clin Invest*, 2000, 105(9): 1189-1197.
- [15] Ito A, Koma Y, Uchino K, et al. Increased expression of connexin 26 in the invasive component of lung squamous cell carcinoma: significant correlation with poor prognosis[J]. *Cancer Lett*, 2006, 234(2): 239-248.
- [16] Nakashima Y, Ono T, Yamanoi A, et al. Expression of gap junction protein connexin32 in chronic hepatitis, liver cirrhosis, and hepatocellular carcinoma[J]. *J Gastroenterol*, 2004, 39(8): 763-768.
- [17] Edwards GO, Jondhale S, Chen T, et al. A quantitative inverse relationship between connexin32 expression and cell proliferation in a rat hepatoma cell line[J]. *Toxicology*, 2008, 253(1-3): 46-52.
- [18] Sheen IS, Jeng KS, Wang PC, et al. Are gap junction gene connexins 26, 32 and 43 of prognostic values in hepatocellular carcinoma? A prospective study[J]. *World J Gastroenterol*, 2004, 10(19): 2785-2790.
- [19] Zhang D, Kaneda M, Nakahama K, et al. Connexin 43 expression promotes malignancy of HuH7 hepatocellular carcinoma cells via the inhibition of cell-cell communication[J]. *Cancer Lett*, 2007, 252(2): 208-215.
- [20] Omori Y, Li Q, Nishikawa Y, et al. Pathological significance of intracytoplasmic connexin proteins: implication in tumor progression[J]. *J Membr Biol* 2007, 218(1-3): 73-77.
- [21] Ma XD, Ma X, Sui YF, et al. Signal transduction of gap junctional genes, connexin32, connexin43 in human hepatocarcinogenesis[J]. *World J Gastroenterol*, 2003, 9(5): 946-950.
- [22] Liu CL, Huang YS, Hosokawa M, et al. Inhibition of proliferation of a hepatoma cell line by fucoxanthin in relation to cell cycle arrest and enhanced gap junctional intercellular communication[J]. *Chem Biol Interact*, 2009, 182(2-3): 165-172.
- [23] Li Q, Omori Y, Nishikawa Y, et al. Cytoplasmic accumulation of connexin32 protein enhances motility and metastatic ability of human hepatoma cells in vitro and in vivo[J]. *Int J Cancer*, 2007, 121(3): 536-546.
- [24] Kawasaki Y, Omori Y, Li Q, et al. Cytoplasmic accumulation of connexin32 expands cancer stem cell population in human HuH7 hepatoma cells by enhancing its self-renewal[J]. *Int J Cancer*, 2011, 128(1): 51-62.
- [25] Jordan CT, Guzman ML, Noble M. Cancer stem cells[J]. *N Engl J Med*, 2006, 355(12): 1253-1261.
- [26] Hermann PC, Huber SL, Herrler T, et al. Distinct populations of cancer stem cells determine tumor growth and metastatic activity in human pancreatic cancer[J]. *Cell Stem Cell*, 2007, 1(3): 313-323.
- [27] Mani SA, Guo W, Liao MJ, et al. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells[J]. *Cell*, 2008, 133(4): 704-715.
- [28] Luo SW, Ye G, Zhang RG, et al. ATRA enhances the bystander effect of HSV-TK/GCV on BIU-87 cell line in vitro[J]. *Acta Academiae Medicinae Militaris Tertiae*, 2005, 5(1): 4-14.
- [29] Ionta M, Ferreira RA, Pfister SC, et al. Exogenous Cx43 expression decrease cell proliferation rate in rat hepatocarcinoma cells independently of functional gap junction[J]. *Cancer Cell Int*, 2009, 9(22): 1-22.

(收稿日期: 2011-01-04)

• 综 述 •

胱抑素 C 的临床应用

唐红梅, 姜振伟 综述, 廖国林 审校

(武汉市普仁医院检验科 430081)

关键词: 肾功能试验; 肾小球滤过率; 胱抑素 C**DOI:** 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 02. 037**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2011)02-0216-03

胱抑素 C(CysC)是一种用于评价早期肾功能损伤的敏感性高、准确性好且较为敏感的新指标,是反映肾小球滤过率(GFR)变化的理想标志物^[1-3]。本文现对 CysC 的临床应用研究进展进行综述。

1 胱抑素的结构和功能

CysC 是一种半胱氨酸蛋白酶抑制剂,由 122 个氨基酸组成,相对分子质量约为 13 300,等电点为 9.3^[4]。人体类所有有核细胞均可分泌 CysC,其分泌及排泄均不受任何外来因素,如性别、年龄、饮食等的影响^[5-7]。CysC 相对分子质量低,等电点高,因此可被肾小球的滤过膜滤过,在近曲小管被完全重吸收并被完全分解代谢,肾小管不分泌 CysC。肾脏是清除循环中 CysC 的惟一器官,且 CysC 生成速度和血液浓度稳定^[8],因

此 CysC 是反映早期 GFR 变化理想、可靠的内源性标志物^[9-10]。

2 GFR 检测与肾功能评价

临床评价肾脏疾病进展和严重程度一般以肾功能为参考,而 GFR 是反映肾功能的重要指标之一,但 GFR 不能直接测定,必须以某物质(标志物)的肾清除率来反映。

根据 GFR 标志物来源,分外源性和内源性。

2.1 外源性标志物(如菊粉、碘海醇、⁵¹Cr-EDTA、^{99m}Tc-DTPA 等)肾清除率是反映 GFR 的“金标准”,但存在许多不足之处,例如标志物价格较高,同位素标记涉及放射暴露问题,标本采集、试验操作繁琐,需要特殊仪器设备,受年龄、性别和体表面积的影响较大,无法实现危急患者检测的及时性等,使其临

床应用受限。

2.2 内源性标志物是评价肾小球滤过功能的最常用指标。理想的内源性标志物应具备如下条件:为终末代谢产物,生成率和血浓度稳定,不受其他病理变化影响,相对分子质量小,不与血浆蛋白结合,肾小球可自由滤过,肾小管不分泌、不重吸收,无肾外清除等^[1]。

临床上常用内源性指标包括血清肌酐(Scr)、尿素(Urea)、内生肌酐清除率(Ccr)等。由于受肾外因素(年龄、性别、身高、肌肉量、膳食结构、机体疾病状况、药物等)以及肾小管分泌作用的影响,使这些指标不能满足理想内源性标志物的要求。Urea 是最早用于肾功能评价的指标,但受疾病(充血性心衰、营养不良、进食困难等)的影响较大,且肾小球对 Urea 有明显的被动重吸收,因此不能作为反映 GFR 的理想内源性标志物。肌酐(Cr)检测方法简便、费用低廉,因此广为使用,但 Scr 水平受年龄、性别、体形、身高、肌肉量及膳食结构等因素的影响,肾小管也可分泌 Cr,而同一个体不同时间段以及不同个体肾小管分泌 Cr 的速率不同。约 30% 的慢性肾病患者 GFR 评估偏高,主要原因就在于肾小管可分泌 Cr;如果以药物抑制肾小管分泌、剧烈运动和摄入荤食等则易导致 GFR 评估偏低;机体 GFR 降至正常水平 50% 以下时,Scr 才明显升高^[1,12]。Ccr 被认为是反映 GFR 较好的指标,但也存在很多不足之处,例如收集 24 h 尿液标本十分不便,且经常收集不全,从而导致检测误差;肾小球的排泄也会干扰 Ccr 测定,引起 Ccr 假性增高。

上述资料表明,Urea、Scr、Ccr 均不能准确、可靠地反映肾功能,有必要寻求更为可靠、准确且检测方法简便快捷的 GFR 标志物。CysC 检测具有操作简便,无需收集 24 h 尿液标本,无需计算体表面积和清除率,患者无需接受射线照射等优点。CysC 满足理想内源性 GFR 标志物的要求,是可用于评价 GFR 的新的敏感指标^[13-16]。

3 血清 CysC 检测方法

清 CysC 浓度较低,故其测定方法需具备较高的灵敏度及特异性。最早用于血清 CysC 检测的方法是单向免疫扩散法(SRID)及酶免疫测定法(EIA),但这两种检测方法不仅费时,而且最低检测限较高(分别为 300、30 $\mu\text{g/L}$)。随后又出现了夹心酶免疫测定方法,其最低检测限虽较低(0.9 $\mu\text{g/L}$),但测定时间仍较长,无法常规应用,更无法用于急诊测定。操作更为简单、灵敏度更高的放射、荧光及各种酶免疫测定(RIA、FIA 及 EIA)方法的出现弥补了部分不足,提高了 CysC 测定的可靠性。但上述各种测定方法都属于非均相测定法,难以自动化,限制了 CysC 检测的临床应用。上世纪九十年代出现了用于 CysC 检测的胶乳颗粒凝集法。该方法具有简便快速、变异系数和误差小、易于自动化等优点,但灵敏度低(最低检测限为 150 $\mu\text{g/L}$)。同时出现的颗粒增强透射免疫比浊法(PETIA)将 CysC 检测用时缩短至 5 min 左右,使 CysC 检测的常规应用成为可能。另一种快速、自动检测 CysC 的方法是颗粒增强散射免疫比浊法(PENIA),其测定结果与 PETIA 法相关性良好。因此目前以 PETIA 或 PENIA 作为常规检测方法^[17]。

4 CysC 的生理变异及参考范围

婴儿出生时血清 CysC 浓度最高,约为 2.16 mg/L,是成年人的 2 倍,出生数周后迅速下降,1 岁后逐渐稳定至成人水平。这可能与不断肾脏发育有关^[18]。不同研究所报道的血清 CysC 参考范围存在一定差异^[19-21],因此各实验室应根据不同区域、不同人群、不同种族、不同检测方法及不同标准品来源制定

适当的参考范围^[22]。

5 CysC 检测的临床应用

5.1 在肾脏疾病诊断中的应用 肾功能检测是诊断肾脏疾病的主要手段,而 GFR 是评价肾功能的重要指标。有研究表明 GFR 为 89~71 mL/(min·1.73 m²)时,Scr 检测均正常,血清 CysC 检测 45%~70% 正常;GFR 为 70~61 mL/(min·1.73 m²)时,Scr 检测 50% 正常,血清 Scr 检测 90% 以上异常;GFR 为 61~51 mL/(min·1.73 m²)时,Scr 检测 24% 正常,血清 CysC 检测 100% 异常。因此在早期肾功能损伤诊断中,血清 CysC 比 Scr 更灵敏^[23-24]。

5.2 在肾移植中的应用 患者接受肾移植后需经历排斥反应和免疫抑制剂的毒性作用,由此导致急性肾功能损伤的风险很大,早期发现肾功能损伤有利于及时采取有效干预措施。GFR 是监测急、慢性排斥反应和免疫抑制剂肾毒性的指标之一。以升高速度较慢的 Scr 反映 GFR 不能及时、准确了解移植肾的功能。

有研究发现,血清 CysC 与 GFR 的相关性最好,其次是 Scr 和 Ccr;血清 CysC 检测的诊断准确度高于 Scr 检测,但与 Ccr 检测相比无明显差异。因此,血清 CysC 检测和 Ccr 检测在评估移植肾的功能方面有相似临床价值^[25]。与其他指标相比,血清 CysC 的升高速度快、幅度大,因此可作为肾移植后肾功能的监测指标。但免疫抑制剂对血清 CysC 的影响尚需进一步研究。

5.3 在糖尿病中的应用 糖尿病肾损害是糖尿病严重的慢性微血管并发症,也是导致糖尿病患者死亡的主要原因之一。有研究证实,以血清 CysC 检测检出糖尿病肾病的灵敏度为 40%,特异性为 100%,是较为敏感和实用的糖尿病肾病早期诊断指标之一^[26-27]。因此有必要在诊断为糖尿病而无证据表明存在肾损伤的患者中定期检测血清 CysC 浓度的变化,以观察其与糖尿病微血管病变的关系。

5.4 在心血管疾病中的应用 已有研究表明,血浆同型半胱氨酸(Hcy)是导致冠状动脉疾病的独立因素。GFR 与血浆 Hcy 间存在显著相关性,因此血清 CysC 作为反映 GFR 的重要标志物,可与其他指标联合应用于冠心病和心血管疾病的风险预测。

5.5 在肝硬化中的应用 肝硬化伴肾功能损伤时患者血容积明显降低,而晚期肝硬化患者 GFR 异常,但 Scr 正常。早期发现肝硬化患者肾功能受累在可预防肝肾综合征方面极其重要。Gerbes 等^[28]对肝硬化患者进行 Scr、尿素氮和血清 CysC 的比较,其敏感度分别为 45%、44% 和 69%。因此血清 CysC 是用来鉴别肝硬化患者肾功能正常或轻度受损的理想指标。

5.6 在妊娠中的应用 产妇和婴儿间血清 CysC 水平存在显著相关性,相对 Scr 而言,婴儿血清 CysC 水平不受产妇影响,所以血清 CysC 可用来反映围产期妇女 GFR 的变化。血清 CysC 与血清尿酸盐和 Scr 相比,对先兆子痫有较好的诊断准确性。

5.7 在化疗中的应用 化疗药物对肾小管有一定的损伤作用,因此在化疗过程中监测肾功能变化及时关注肾功能状况极为重要。早期发现肾功能受损有利于更改化疗疗程和用药剂量,以改善预后,此时血清 CysC 的检测比 Scr 更有意义。

5.8 在肿瘤方面的应用 在恶性疾病中,细胞外 mRNA、蛋白质和肿瘤组织中胱氨酸蛋白酶含量增高,而细胞内 CysC 水平无变化或仅轻度增高,从而导致胱氨酸蛋白酶及 CysC 不平衡。当机体处于应激状态时,CysC 和巨球蛋白分泌增多,使细

胞外胱氨酸蛋白酶的水解活性受抑,从而导致肿瘤细胞的生长、侵袭和转移。因此,检测 CysC 可观察肿瘤患者病情的变化。

5.9 在高血压病中的应用 高血压患者作为慢性肾病的高危人群,如不能早期发现轻度肾功能受损极易发展为终末性肾病。因此,临床上定期监测高血压病患者血清 CysC 水平对早期肾功能损伤的预防、诊断和治疗具有很重要的意义。

综上所述,由于 CysC 具有特殊的生物学特性和功能,使其成为反映 GFR 的理想标志物,对多种疾病的诊断和病情观察具有极其重要的临床意义。

参考文献

[1] 姚震. 胱蛋白酶抑制剂 C 诊断早期肾功能损伤的研究[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(1): 34-35.

[2] 刘军, 杨好治. 胱抑素 C 的临床意义与测定应用[J]. 医学检验与临床, 2008, 19(2): 78-79.

[3] 杜国有, 顾向明, 黄阶胜, 等. 血清胱抑素 C 检测在评价 2 型糖尿病早期肾功能损害中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(9): 798-800.

[4] 孙晓慧. 血清胱抑素 C 测定在疾病监测中的应用[J]. 医学综述, 2006, 12(7): 443-445.

[5] 罗长青, 王玉梅, 邓安国, 等. 测定血清 Cystatin C 浓度判断肾小球滤过率的临床意义[J]. 临床内科杂志, 2003, 20(3): 154-155.

[6] 邢延芳, 张艳, 李慧. 胱抑素 C 与其他内源性标志物在肾功能损害中的相关性分析[J]. 医学检验与临床, 2010, 7(18): 1985-1986.

[7] 莫其农, 周小梅, 李春花, 等. 胱抑素 C、白细胞介素 6 及急性时相蛋白与慢性肾功能不全的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(8): 803-805.

[8] 魏建威, 郑登滋, 陈友. 血清胱抑素 C 测定的临床应用[J]. 实用医技杂志, 2007, 14(11): 4244-4245.

[9] 张洪波. 41 例肾衰竭患者血中半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 与脂肪酶的变化分析[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(17): 1858-1859.

[10] 颜永乾. CystatinC 联合尿微量清蛋白检测在糖尿病肾病早期诊断中的价值[J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(12): 1132-1133.

[11] 俸家富, 张林. 基于血清胱抑素 C 水平评估肾小球滤过率的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(4): 354-355.

[12] 王琳, 王笔金. 胱抑素 C 在不同疾病中的表达[J]. 检验医学与临床, 2009, 6(12): 983-984.

[13] 俸家富, 陈婷梅, 涂植光. 感染 HBV 或 HCV 的肝病患者血清半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 的改变[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29

(11): 987-990.

[14] 张英芬, 钟桂香. 肾功能损害程度与血清胱抑素 C 的相关性研究[J]. 中国误诊学杂志, 2008, 8(12): 2820-2821.

[15] 王冬娥, 袁春雷, 李栓文, 等. 胱抑素 C 与尿素、肌酐检测的临床应用比较[J]. 现代医院, 2009, 9(7): 72-73.

[16] 张晓洁, 徐华国, 葛高霞. 半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 在儿童早期肾病诊断中的应用[J]. 江苏医药, 2008, 34(4): 351-353.

[17] 侯振江, 魏明竞. 胱抑素 C 及其检测方法研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28(11): 1014.

[18] Shinizu A, Horikoshi S, Rinno H, et al. Serum cystatin C may predict the early prognostic stages of patients with type 2 diabetic nephropathy[J]. Clin Lab Anal, 2003, 17(5): 103-104.

[19] Finney H, Newman DJ, Price CP. Adult reference ranges for serum cystatin C, creatinine and predicted creatinine clearance[J]. Ann Clin Biochem, 2000, 37(Pt 1): 49-59.

[20] 李玉林, 徐国宾, 朱立华. Cystatin C 与肌酐在评价肾小球滤过功能中的比较研究[J]. 中国实验诊断学, 2001, 5(4): 154-156.

[21] 韩平治, 丁进芳, 张肿, 等. 兰州市健康人血清胱抑素 C 浓度参考范围的调查[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(2): 176-178.

[22] Groesbeck D, Kottgen A, Parekh R, et al. Age, gender, and race effects on cystatin C levels in US adolescents[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2008, 3(6): 1777-1785.

[23] 刘俊峰, 杨浏. Cystatin C 评价肾小球滤过功能的临床应用进展[J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(5): 467-468.

[24] 周铁成, 杨小云, 秦庆, 等. 胱抑素 C 测定在肾脏疾病诊断中的临床应用[J]. 现代检验医学杂志, 2008, 23(3): 107-109.

[25] 黄君富, 魏明镜. 血清胱抑素 C 测定的临床意义及方法学进展[J]. 国外医学: 临床生物化学与检验分册, 1999, 22(1): 8-10.

[26] Mojiminiyi OA, Abdella N, Gorge S. Evaluation of sersum Cystatin C and chromogranin A as markers of nephropathy in patients with typediabetes mellitus[J]. Scand J Clin Lab Invest, 2000, 60(6): 483-489.

[27] 李雪梅, 刘征宇. 检测血清胱抑素 C 对糖尿病肾功能损伤的早期诊断作用[J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(6): 554-556.

[28] Risch L, Blumberg A, Huber A. Rapid and accurate assessment of glomerular filtration rate in patients with renal transplants using serum cystatin C[J]. Nephrol Dial Transplant, 1999, 14(8): 1991-1996.

(收稿日期: 2010-05-04)

• 综 述 •

血小板活化的研究进展

季明德 综述, 王 东 审校
(江苏省中医院检验科, 南京 210029)

关键词: 血小板; 血小板活化; 研究

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 02. 038

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)02-0218-03

血小板活化发生在各种缺血性心脑血管疾病如脑梗死、高血压、急性冠脉综合征等,有血栓形成倾向的疾病如弥散性血管内凝血(DIC),急性早幼粒细胞白血病,阵发性睡眠性血红蛋白尿症,急性肺栓塞,膜性增生性肾小球肾炎,房室瓣或主动脉瓣狭窄或关闭不全等,免疫系统疾病如系统性红斑狼疮,类风湿性关节炎,溃疡性结肠炎等,代谢性疾病如糖尿病等。

血小板活化不仅参与了止血过程,也是炎症易化及进展的关键一环,徐士欣^[1]报道,血小板及其活化产物,如 P-选择素、CD40L、白介素及某些化学激动剂等,也广泛参与了炎症反应,并在分子水平与凝血反应链之间存在错综复杂的联系。曾振飞和梁念慈报道^[2],溶血磷脂酸是脂质代谢的重要中间产物,通过多种信号传导途径引起广泛的生物学效应,被称为细胞间