

• 论 著 •

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

李 志¹, 王 青¹, 张婷婷², 徐维家¹

(1. 辽宁省大连市中心医院检验科 116033; 2. 大连医科大学检验医学院医学检验 2006 级 116044)

摘 要:目的 观察急性脑梗死(ACI)患者血清 S-100b 蛋白和基质金属蛋白酶-2(MMP-2)含量的变化,探讨其在 ACI 发病中的作用及临床意义。方法 选取 56 例 ACI 病例为患者组,30 例健康体检者为对照组。采用 ELISA 法动态监测血清 S-100b 蛋白和 MMP-2 的浓度,并用 SPSS17.0 统计软件进行统计学分析。结果 患者组血清 S-100b 蛋白和 MMP-2 水平均明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),S-100b 蛋白浓度于发病后第 3 天达高峰,MMP-2 浓度于发病后第 7 天达高峰,之后浓度逐渐降低。S-100b 蛋白和 MMP-2 与脑梗死体积大小和损伤程度存在相关性($P<0.05$)。结论 ACI 患者脑血清 S-100b 蛋白和 MMP-2 浓度能敏感地反映患者梗死体积和神经功能损伤程度,是 ACI 临床诊断、病情监测和疗效观察的重要参数。

关键词:脑梗死; S100 蛋白质类; 基质金属蛋白酶-2

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.14.018

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)14-1569-02

Clinical significance of serum S-100b protein and MMP-2 in patients with acute cerebral infarction

Li Zhi¹, Wang Qing¹, Zhang Tingting², Xu Weijia¹

(1. Department of Clinical Laboratory, Dalian Municipal Central Hospital, Dalian 116033, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Dalian Medical University, Dalian 116044, China)

Abstract: Objective To observe the changes of S-100b protein and matrix metalloproteinases-2 (MMP-2) in serum of patients with acute cerebral infarction (ACI) and to evaluate the effect and clinical significance in ACI. Methods 56 patients with ACI as case group and 30 health examination persons as control group were selected. ELISA was used to measure the serum levels of S-100b protein and MMP-2. Comparison analysis was performed by using SPSS17.0 statistical software. Results The serum levels of S-100b protein and MMP-2 in case group were significantly higher than the control group ($P<0.05$), S-100b protein level increased to the top on the third day and MMP-2 level on the seventh day. There was a positive correlation between serum levels of S-100b protein and MMP-2 with the infarction volume and the extent of lesion ($P<0.05$). Conclusion The serum levels of S-100b protein and MMP-2 remarkably increased in patients with ACI, and the increasing degree may not only sensitively reflect the infarction volume and the extent of lesion of central nervous system, but also could be main parameter for clinical diagnosis, evaluation and treatment.

Key words: brain infarction; S100 proteins; matrix metalloproteinases-2

脑梗死作为世界常见疾病之一,已经成为人类死亡的第 2 大原因,据统计脑梗死在中国的发病率呈上升趋势^[1]。尽管现代影像学技术的发展为脑血管病诊断提供了很大的帮助,但脑组织对缺血、缺氧损伤非常敏感,脑动脉闭塞导致缺血超过 5 min 即可发生脑梗死,而影像学技术的作用往往发挥在 24 h 以后。近年来,脑组织损伤释放出来的神经化学物质引起国内外学者的一致关注^[2]。S-100b 蛋白是神经胶质细胞的标志性蛋白,在脑损伤后神经胶质细胞受损时,可通过血脑屏障(BBB)进入血液。基质金属蛋白酶-2(MMP-2)是基质金属蛋白酶家族的一员,脑损伤后通过降解细胞外基质,引起白细胞浸润、脑出血、脑水肿形成病理改变^[3]。本文旨在探讨急性脑梗死(ACI)患者血清 S-100b 蛋白和 MMP-2 的检测及其临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取大连市中心医院神经内二科于 2010 年 4~8 月收治的 56 例 ACI 患者组成患者组,其中男 33 例,女 23 例,平均年龄(57.5 ± 5.49)岁。符合全国第 4 届脑血管病学术会议修订的诊断标准^[4],并经头颅 CT 或 MRI 证实,并且排除以下几种情况:(1)近期有感染性疾病、颅脑外伤史。(2)伴有恶性肿瘤、免疫性疾病。(3)伴有血液系统疾病、严重的心、脑、肾疾病及糖尿病。(4)重大外科手术及接受免疫抑制剂治疗。选取 30 例同期健康体检者为对照组,其中男 18 例,女 12 例,平均年龄(56.6 ± 6.96)岁。在年龄、性别方面患者组与对照组

之间差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 分组 (1)按发病后不同时间分组:分别在发病后第 1、3、7、14 天收集患者血清,测定发病不同时间 ACI 患者血清 S-100b 蛋白和 MMP-2 水平的变化。(2)按梗死灶体积大小分组:患者入院 3 d 后,根据患者头颅 CT 或 MRI 显示,脑梗死体积按 Pullicino 公式(脑梗死体积=长×宽×CT 扫描阳性层次×层厚×1/2)计算,参照陈明生等^[5]对脑梗死灶分类标准,将 56 例患者分为小梗死灶组(23 例,病灶体积小于 5 cm³)、中梗死灶组(20 例,病灶体积 5~10 cm³)、大梗死灶组(13 例,病灶体积大于 10 cm³)。(3)按损伤程度分组:患者入院 3 d 后,按照中国卒中量表(CSS)^[6],对患者神经功能受损程度进行评分,将 56 例 ACI 患者分为轻型组(0~15 分)24 例、中型组(16~30 分)19 例、重型组(31~45 分)13 例。

1.2.2 标本采集和处理 分别抽取所有患者入院后第 1、3、7、14 天的空腹静脉血 5 mL,2 例因死亡仅在第 1、3 天采血。标本置于 BD 公司生产的促凝管中,以 8 cm 离心半径,3 000 r/min 离心 10 min,分离血清于一 70 ℃低温冰箱冻存待测。对照组一次性采集晨起空腹血 5 mL,按同样方法进行分离,血清冻存待测。所有标本均无溶血。

1.2.3 检测方法 S-100b 蛋白试剂盒由瑞典 CanAg 公司提供, MMP-2 试剂盒由武汉博士德生物试剂公司提供,仪器均为瑞典 SUNRISE 酶标仪。均采用 ELISA 法测定,测定步骤

均严格按照说明书执行。

1.3 统计学处理 应用 SPSS17.0 软件进行处理。所有实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组比较采用方差分析, t 检验进行统计学分析,相关分析采用单因素直线相关分析。

2 结 果

2.1 不同发病时间患者血清 S-100b 蛋白和 MMP-2 水平的变化 与对照组相比,患者组血清 S-100b 蛋白和 MMP-2 水平于发病 1 天后升高,其中 S-100b 蛋白在发病第 3 天升高显著,MMP-2 水平在发病第 7 天升高显著,之后浓度逐渐降低,至第 14 天时 MMP-2 水平仍大于正常值,S-100b 蛋白水平基本恢复到正常值,见表 1。

表 1 不同发病时间 ACI 患者血清 S-100b 蛋白和 MMP-2 浓度变化

组别	<i>n</i>	S-100b 蛋白(μg/L)	MMP-2(μg/L)
对照组	30	0.104±0.03	52.537±1.41
患者组	发病后 1 d	0.246±0.03*	73.347±0.71*
	发病后 3 d	0.316±0.04#	194.771±0.95#
	发病后 7 d	0.220±0.02△	243.134±2.03△
	发病后 14 d	0.109±0.03▲	171.921±1.03*

*: $P<0.05$,▲: $P>0.05$,与对照组比较;#: $P<0.05$,与发病后 1 d 比较;△: $P<0.05$,与发病后 3 d 比较。

2.2 脑梗死灶体积大小与患者血清 S-100b 蛋白和 MMP-2 水平的关系 比较梗死灶体积大小不同的各组患者血清 S-100b 蛋白和 MMP-2 水平,结果显示,大、中、小 3 组梗死灶患者血清 S-100b 蛋白和 MMP-2 水平两两比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 ACI 患者不同梗死灶血清 S-100b 蛋白和 MMP-2 水平比较

组别	<i>n</i>	S-100b 蛋白(μg/L)	MMP-2(μg/L)
小梗死灶组	23	0.212±0.02	74.451±10.54
中梗死灶组	20	0.296±0.04*	147.534±24.52*
大梗死灶组	13	0.405±0.03#	263.365±26.52#

*: $P<0.05$,与小梗死灶组比较;#: $P<0.05$,与中梗死灶组比较。

2.3 不同病情严重程度血清 S-100b 蛋白和 MMP-2 水平比较 重型组患者 S-100b 蛋白和 MMP-2 浓度明显高于中型组患者,中型组患者明显高于轻型组患者,三者间差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

表 3 病情严重程度不同时血清 S-100b 蛋白和 MMP-2 水平比较

组别	<i>n</i>	S-100b 蛋白(μg/L)	MMP-2(μg/L)
轻型组	24	0.158±0.02	73.555±13.44
中型组	19	0.260±0.02*	131.565±35.08*
重型组	13	0.405±0.04#	242.363±34.42#

*: $P<0.05$,与轻型组比较;#: $P<0.05$,与中型组比较。

3 讨 论

S-100 蛋白是一组高酸性钙离子结合蛋白,分为 S-100a0、S-100a 和 S-100b 3 种形式,其中 S-100b 由 2 条 β 链构成。S-100b 蛋白主要分布于中枢神经胶质细胞、脑干的大部分感觉神经细胞内,能广泛调节细胞内过程,并且在促进轴索生长、神经元分化以及钙自动调节平衡方面起到重要的作用。S-100b 蛋白作用于神经元及其周围的环境,是神经元与神经胶质细胞相互联系的中介物质。在脑发育和脑损伤时,S-100b 蛋白适量的表达对脑组织起到了营养保护的作用;在表达过量时,可加速神经系统的恶化,导致神经系统功能紊乱^[7]。

本研究动态结果显示,56 例 ACI 患者血清 S-100b 蛋白水

平明显高于对照组,且二者差异有统计学意义($P<0.05$),从发病后第 1 天开始增加,第 3 天达高峰,之后逐渐降低,至第 14 天时基本恢复到正常值。这与 Abraha 等^[8] 研究一致。可能机制是当脑缺血损伤时,星形胶质细胞被激活,进而反应性增生,其分泌巨噬细胞炎性蛋白参与炎性反应,导致神经胶质细胞水肿、坏死,细胞膜的完整性被破坏,S-100b 蛋白不能与细胞内肌动蛋白结合,故容易从细胞质中释放出来,通过 BBB 入血,引起血清中 S-100b 蛋白水平增高,而且在早期患者影像学还没有改变时即可增高,随着病情的好转 S-100b 蛋白浓度逐渐下降。因此,S-100b 蛋白水平可以作为早期评估神经功能缺损程度的一个可靠指标。

血清中 S-100b 蛋白浓度的高低,还与疾病的严重程度有关。本研究发现梗死灶体积的大小与 S-100b 蛋白浓度呈正相关,梗死灶体积越大,S-100b 蛋白浓度越高。同时 S-100b 蛋白浓度的高低也反映了神经胶质细胞的损伤程度,病情越重,S-100b 蛋白浓度越高,预后越差。可能是脑组织损伤后,梗死灶体积越大,病情越严重,神经细胞缺血、缺氧越严重,随着病情逐渐恶化,缺血、缺氧进一步加速 S-100b 蛋白的合成,高浓度 S-100b 蛋白可引起神经元变性和诱导胶质细胞凋亡。

MMP 是一组分解细胞外基质的蛋白裂解酶,其活性依赖于 Ca^{2+} 和 Zn^{2+} 。这些酶来自胶质细胞、中性粒细胞、神经元以及血管内皮细胞,其主要功能是降解和重塑细胞外基质,维持细胞外基质的动态平衡。MMP 中大多数以无活性酶原的形式分泌^[9]。MMP 的表达和活性调节在不同的细胞水平受到严密的调控^[10]。正常稳态下,MMP 的表达量极微,当机体受到损伤,发生病理改变时,其表达量明显增多。

MMP-2 又称明胶酶 A,可由星形细胞、小胶质细胞、内皮细胞、神经细胞、T 淋巴细胞、中性粒细胞等合成分泌。MMP-2 活性可以被非特异性抑制剂及内源性 MMP 抑制因子(TIMPs)所抑制^[11]。MMP-2 可通过降解脑血管周围基膜主要成分 IV 型明胶原、层粘连蛋白和纤粘连蛋白,从而在脑梗死及随后引起的继发性脑损伤病理过程中起重要作用。

本研究发现,ACI 患者血清 MMP-2 水平明显高于对照组,在发病后第 3 天有所增加,且在第 7 天时达到高峰,之后逐渐降低,至第 14 天时仍高于正常组。这与 Rosenberg 等^[12] 研究的结果相一致。这提示 ACI 时,脑局部出现缺血或缺氧,作为一种信号刺激胶质细胞、内皮细胞、炎症细胞因子等激活 MMP-2,使脑梗死灶局部 MMP-2 表达与活性增高,增高的 MMP-2 可通过降解基底膜,破坏 BBB 形成血管源性脑水肿,进而引起炎症细胞浸润,使局部 MMP-2 及炎症产物进入血液循环系统。从而使血清 MMP-2 浓度增加。再灌注早期 MMP-2 也可能参与了 BBB 的早期开放,MMP-2 在缺血后损伤的修复和神经再生过程中起重要的作用。

本研究还发现脑梗死灶越大,神经系统损伤越重,血清 MMP-2 的浓度越高。分析其机制可能为梗死面积越大,造成神经功能损伤越重,进而使局部和全身炎症反应程度越强烈,诱导、合成、分泌的 MMP-2 越多,造成脑缺血再灌注越严重,预后越差。

综上所述,S-100b 蛋白和 MMP-2 水平在 ACI 患者血清中的含量均有不同程度的增加,其升高的时间和幅度并不一致,分别反映了不同的病理过程。虽然它们对 ACI 的诊断不具有特异性,但反映了神经细胞的损伤程度,可作为脑组织损伤后的标志性蛋白,有助于监测病情变化、疗效观察、为判断神经系统的损害程度提供了定量信息,也是病情恢复程度的重要参数,对早期评价脑损伤的程度与患者的预后(下转第 1572 页)

表 2 20 名多次捐献机采血小板献血者其他外周血细胞的变化

项目	RBC (×10 ¹² /L)	WBC (×10 ⁹ /L)	RDW-CV (%)	Hb (g/L)
正常值均数	4.5	7.0	13.0	135
首次采集前	4.6±0.6	7.1±1.6	13.2±0.9	131±18
末次采集前	4.7±0.5	7.4±1.4	19.8±0.7	137±14

3 讨 论

表 1 统计结果显示,多次捐献血小板的献血者,其末次采集前外周血 PLT 和首次采集前 PLT、正常值均数相比,差异均无统计学意义($P>0.05$),说明多次捐献血小板并未引起献血者外周 PLT 的降低。而单次采集机采 1~2 单位血小板后,外周 PLT 比采集前平均下降 23%~33%^[3]。骆海燕等^[4]对 17 名连续采集机采 2 单位血小板的捐献者进行了 PLT 监测,发现采集后的 1 个月献血者血小板基本恢复到原有水平。统计还表明,多次捐献血小板后,献血者的 PDW、MPV、P-LCR 末次采集与采集前、正常值均数比较均有统计学意义差异($P<0.01$),MPV 下降,这与金宗骧等^[5]报道的结果基本一致。P-LCR 下降的原因还待进一步研究。李莉^[6]报道,单采 30 次以上、间隔期为 1 个月的献血者,MPV、P-LCR 均明显升高,而本文研究的结果与李莉报道的不太一致。戴宇东等^[7]报道,有限单采血小板对献血者的巨核系有较强的刺激增生作用,而频繁单采血小板对巨核系的刺激作用则不明显。

表 2 结果表明,多次捐献血小板的献血者外周血 RBC、WBC、Hb 水平并未发生明显的变化,但 RDW-CV 增加,这可能是每次捐献机采血小板时献血者都要进行抽血样检测,且献血小板后机采管道里滞留一定量的红细胞,红细胞的丢失反射性地刺激骨髓造血,而新生的红细胞体积较大,使红细胞的大小不均一性增加,导致 RDW-CV 增加。献血者频繁捐献血小板,又经常丢失红细胞,而造血的主要原料是铁、蛋白质和叶酸,所以多次捐献血小板的献血者是否会引起铁的缺乏,还需做进一步研究。胡玉秀等^[8]报道,单次捐献机采血小板 1~2 单位前后,由于捐献者血浆的采集,血液被浓缩,静脉血 RBC 与 Hct 的差异有统计学意义,Hct 平均上升了近 2%~2.5%,单位体积 RBC 增加约 $0.25\times10^{12}/L$ 。本研究的方法是在首次

和末次采集血小板之前对献血者进行外周 PLT 检测,所以与该报道的结论并不矛盾。

献血者在机采血小板前进行外周 PLT 检测对保证血小板质量和献血者安全都具有重要的意义。血细胞分析仪在长期使用过程中,其检测结果会发生漂移而出现较大偏差,所以应定期对仪器进行比对试验,以及时发现此种情况^[9]。在仪器检测结果准确性降低时,如仪器进行了维修或随着仪器使用时间延长而引起仪器灵敏度逐渐变化等情况,需要重新进行校正^[10]。这样才能确保血细胞分析仪测定结果的准确性。

本研究表明,多次捐献机采血小板后,献血者外周血象并未发生明显的变化。RDW-CV 和 PDW 增加,说明献血可以促进骨髓的造血功能,对人体并无明显不利的影响;而 MPV 和 P-LCR 下降,是否对人体有不利影响,有待进一步做深入研究。

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部医政司. 全国临床检验操作规程[M]. 南京:东南大学出版社,2006:1018.

[2] 王卫金,金玉富,杜万丽. 静脉血与末梢血检测血小板结果的比较与分析[J]. 国际检验医学杂志,2008,29(9):839.

[3] 王培华. 输血技术学[M]. 北京:人民卫生出版社,2002:19-50.

[4] 骆海燕,方放,冯彩虹. 2 个治疗量机采血小板捐献者的选择方法[J]. 中国输血杂志,2009,22(7):573-574.

[5] 金宗骧,刘军,杨振江,等. 反复单采血小板对献血者健康的影响[J]. 天津医药,1998,26(7):403-405.

[6] 李莉. 单采血小板对献血者外周血象的影响[J]. 临床输血与检验,2004,6(4):273-274.

[7] 戴宇东,孙启俊,孟铎,等. 单采血小板献血者血小板生成能力的考察[J]. 中国输血杂志,2003,16(4):258-259.

[8] 胡玉秀,李聚林,李文初,等. 机采血小板采集前后血常规分析[J]. 中国输血杂志,2010,23(12):1042-1043.

[9] 李美英,王润琴,杨海青. 新鲜全血应用于血细胞分析仪间的比对试验[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(5):509-510.

[10] 姚书克,庞萌萌. 血小板在两台仪器上比对方法的探讨[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(10):1178-1179.

(收稿日期:2011-02-10)

(上接第 1570 页)

具有重要的意义,其临床应用价值值得关注。

参考文献

[1] 赵建国. 脑梗死[M]. 北京:人民卫生出版社,2006:1-3.

[2] 卢明华,李光迪,杨佩琦. 超敏 C 反应蛋白和 S100B 蛋白的浓度对急性脑梗死患者的临床意义[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(4):343-344.

[3] 谭晶,臧志忠,欧阳和中. 急性脑梗死血清基质蛋白酶的表达与病情转归的相关性分析[J]. 实用临床医药杂志,2010,14(1):72-73.

[4] 中华神经科学会. 各类脑血管病的诊断要点[J]. 中华神经科杂志,1996,29(6):379-380.

[5] 陈明生,朱瑞芬,詹庆盈. 脑梗死患者血清 TNF- α 、IL-1 β 含量的变化及其临床意义的研究[J]. 中华神经免疫学和神经病学杂志,2001,8(1):32-34.

[6] 廖群汾,梁德胜,王为民,等. 脑出血患者血清 S-100b 蛋白与神经功能损害的相关性研究[J]. 第三军医大学学报,2005,27(7):1494-1496.

[7] Van Eldik LJ, Wainwright MS. The Janus face of glial-derived S-

100B beneficial and detrimental functions in the brain[J]. Restor Neurol Neurosci,2003,21(3/4):97-108.

[8] Abraha HD, Butterworth RJ, Bath PM, et al. Serum S-100 protein, relationship to clinical outcome in acute stroke[J]. Ann Clin Biochem,1997,34(5):546-550.

[9] Hamacher S, Matern S, Roeb E. Extracellular matrix-from basic research to clinical significance an overview with special consideration of matrix metalloproteinases[J]. Dtsch Med Wochenschr,2004,129(38):976-980.

[10] 潘成利,马立新,付红梅. MMP-2、MMP-9 在血脑屏障损伤中的作用[J]. 中国医药装备,2008,5(5):47-50.

[11] 杜秋香,王英元. MMP-2 和 MMP-9 与脑损伤及其法医学意义[J]. 中国法医学杂志,2008,23(4):247-289.

[12] Rosenberg GA, Navratil M, Barone F, et al. Proteolytic cascade enzymes increase in focal cerebral ischemia in rat[J]. Cereb Blood Flow Metab,1996,16(3):360-366.

(收稿日期:2011-02-24)