[16] Ito Y, Kawabe S, Kojima S, et al. Identification of Epstein-Barr virus-infected CD27+ memory B cells in patients after transplantation[J]. J Gen Virol, 2011, 92(Pt 11):2590-2595.

[17] Matsuda K, Nakazawa Y, Yanagisawa R, et al. Detection of T-cell receptor gene rearrangement in children with Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis using the BIOMED-2 multiplex polymerase chain reaction combined with GeneScan analysis[J]. Clin Chim Acta, 2011, 412(17-18):1554-1558.

[18] 伊强, 陈丹, 李雯, 等. EB 病毒 BZLF1N 基因的克隆与序列分析[J]. 实用医学杂志, 2010, 26(6):910-912.

[19] Kimura H, Morita M, Yabuta Y, et al. Quantitative analysis of Epstein-Barr virus load by using a real-time PCR assay[J]. J Clin

Microbiol, 1999, 37(1):132-136.

[20] Lay ML, Lucas RM, Ratnamohan M, et al. Measurement of Epstein-Barr virus DNA load using a novel quantification standard containing two EBV DNA targets and SYBR Green I dye[J]. Vir-ol J, 2010, 7:252.

[21] 金欣, 陈建魁, 于农, 等. 血液系统恶性肿瘤患者巨细胞病毒和 EB 病毒定量检测的临床价值[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(7):793-794.

[22] 黎庆梅, 陈辉, 庄碧英. 实时荧光定量 PCR 在 EB 病毒 DNA 检测中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(13):1423-1424.

(收稿日期:2012-01-08)

• 综 述 •

阿尔茨海默病患者体液生物标志物的研究进展

李 妹 综述, 邱 玲[△], 秦绪珍 审校

(北京协和医院检验科生化与免疫实验室 100730)

关键词:阿尔茨海默病; 脑脊髓液; 血液; 尿; 淀粉样蛋白; tau 蛋白质类; 生物标志物

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.09.030

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)09-1092-04

阿尔茨海默病(alzheimer's disease, AD)是一种在老年人群中常见的神经系统退行性疾病,临床主要表现为记忆和认知功能损害、行为异常和人格改变等,典型病理特征是老年斑(senile plaques, SPs)、神经原纤维缠结(neurofibrillary tangles, NFTs)和广泛的神经元缺失等。2011年4月由美国国家老年研究所和AD协会发布的一项指南中将AD自然病史分为3个阶段:临床前期、轻度认知损害期(mild cognitive impairment, MCI)和AD痴呆期,但多数患者确诊时已处于不可逆转的AD痴呆期,寻找一种或几种AD早期诊断的生物标志物已成为国内外学者共同关心的课题^[1-2]。现将近年来脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)、血液及尿液标本中AD生物标志物和检测方法新进展综述如下。

1 生物标志物的定义及满足条件

生物标志物是一项经客观测量能够反映人体内生理或病理过程改变的代表性指标,其所提供的信息在疾病预测、早期诊断、预后判断、疗效评价和疾病监测等方面具有重要价值。根据国际老年协会的规定,理想的诊断AD的生物标志物应符合以下标准:能够检测基础且特征性的神经系统病理改变,诊断AD的敏感性大于80%,鉴别AD与其他形式痴呆的特异性大于80%,结果可重复,非创伤性,简单易行,价格低廉。目前通过多项指标联合诊断,AD生物标志物的检测性能已经达到临床要求。

2 CSF、血液和尿液中的生物标志物

2.1 CSF 中的生物标志物 CSF 直接与中枢神经系统的细胞外空间联系,大脑的生物学变化将最先在CSF中反映出来,因此CSF成为研究AD生物标志物最多的一种标本类型。

2.1.1 β 淀粉样蛋白(amyloid β peptide, Aβ)和 Tau 蛋白 Aβ 是 SPs 主要成分,含 36~43 个氨基酸的多肽。β 淀粉样蛋白前体(amyloid precursor protein, APP)经过 β、γ 分泌酶裂解成 Aβ 片段,主要有 Aβ40、Aβ42 两种单体形式, Aβ42 比 Aβ40 多 2

个疏水性氨基酸,聚集能力更强,先聚集成可溶性 Aβ 寡聚体,后进一步聚集成 SPs, Aβ40 是在 AD 疾病进展过程中逐渐形成的,聚集的不溶性 Aβ 具有较强的神经毒性。Tau 是 NFTs 主要成分,是一种神经元微管相关蛋白,具有稳定微管网状结构的功能,AD 患者脑内 Tau 蛋白高度磷酸化,易于聚集,形成 NFTs,导致神经元微管破坏,胞体-轴突营养物质运输及传递障碍,神经元退化死亡。Tau 蛋白至少存在 30 个磷酸化位点,目前检测的磷酸化位点主要是苏氨酸 181(P-Tau181)、苏氨酸 231(P-Tau231)和丝氨酸 199(P-Tau199)^[1]。

相对于健康对照组,研究发现多数 AD 患者 CSF 中 Aβ42 水平下降, Aβ40 水平保持不变,总 Tau 蛋白(total tau, T-Tau)和磷酸化 Tau 蛋白(phorylated tau, P-Tau)升高。Aβ42 水平下降可能是因为在 SPs 中沉积过多,扩散至 CSF 中的相应减少, T-Tau 和 P-Tau 水平升高可能是 NFTs 导致神经元退化死亡,然后被胶质细胞吞噬并向细胞外释放大量 T-Tau 和 P-Tau,一部分进入 CSF 中所致。

Aβ42 下降、T-Tau 和 P-Tau 升高三者诊断 AD 方面显示了很高的准确性。Blennow^[3]报道在鉴别 AD 和正常老年化时 Aβ42 的敏感性为 86%,特异性为 89%; T-Tau 敏感性为 81%,特异性为 91%。Hulstaert 等^[4]进行的一项多中心大样本研究显示,诊断 AD, Aβ42 的敏感性为 85%,特异性为 55%; T-Tau 的敏感性为 85%,特异性为 65%;而联合应用 Aβ42 和 T-Tau 的敏感性为 85%,特异性为 86%,联合应用优于单项指标。另有研究发现 P-Tau199 诊断 AD 的价值重大,敏感性和特异性均达 85%^[5]。Aβ42 水平不随年龄而改变, T-Tau 水平随年龄增长而升高,二者均与性别无关, Sjogren 等^[6]建议健康者的参考范围: T-Tau 21~50 岁, <300 ng/L; >50~70 岁, <450 ng/L; >70~93 岁, <500 ng/L。 Aβ42 >500 ng/L。

Aβ42 下降、T-Tau 和 P-Tau 升高在预测 MCI 患者进展为 AD 方面有重要意义,稳定型 MCI(MCI-MCI) Aβ42 基线水平

[△] 通讯作者, E-mail: linqubj@yahoo.com.cn.

比进展型 MCI(MCI-AD)更低, T-Tau 和 P-Tau 基线水平更高。最大的一项研究是由欧美 12 个研究中心共同进行的长达 2 年多的随访研究, 750 例 MCI 中有 271 例进展为 AD(MCI-AD), 设定 $A\beta_{42} \leq 482$ ng/L、 $T\text{-Tau} \geq 320$ ng/L、 $P\text{-Tau}_{181} \geq 52$ ng/L 作为判定界值时 $A\beta_{42}$ 预测的敏感性为 78%, 特异性为 65%; T-Tau 预测的敏感性为 83%, 特异性为 72%; P-Tau₁₈₁ 预测的敏感性为 84%, 特异性为 47%; 联合 $A\beta_{42}/P\text{-Tau}_{181}$ 比值和 T-Tau 预测的敏感性 83%, 特异性 72%^[7], 三者联合应用的价值最大。同样在长达 6 年的随访研究中, $A\beta_{42}/P\text{-Tau}_{181}$ 比值和 T-Tau 联合预测 MCI-AD 的敏感性为 95%, 特异性为 87%^[8]。

$A\beta_{42}$ 下降、T-Tau 和 P-Tau 升高还可以预测健康者认知功能下降和 AD 痴呆的发生。该人群可能是处于 AD 临床前期阶段的患者, 大脑内部 AD 相关的病理改变已经发生, 但认知功能仍正常。Fagan 等^[9] 研究发现在健康者中 T-Tau/ $A\beta_{42}$ 和 P-Tau₁₈₁/ $A\beta_{42}$ 比值越高, 认知功能越容易下降。有学者指出 P-Tau₁₈₁ 异常是预示认知功能下降最敏感的一项指标^[10]。

$A\beta$ 和 Tau 在鉴别 AD 和其他类型的痴呆方面发挥很大作用。 $A\beta_{42}$ 降低不仅见于 AD, 在 Lewy 小体痴呆 (lewy-body dementia, DLB)、额颞叶痴呆 (frontotemporal dementia, FTD)、血管性痴呆 (vascular dementia, VD) 中也有所下降, 范围有很多的重叠, 单独用于鉴别诊断的特异性不高。但有报道发现更小的 $A\beta$ 片段如 $A\beta_{37}$ 、38、40 在 AD 患者 CSF 中会有轻度升高, $A\beta_{42}/A\beta_{37}$ 、 $A\beta_{42}/A\beta_{38}$ 和 $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ 比值可很好地鉴别 AD 和其他类型的痴呆^[11]。一项 Meta 分析指出 T-Tau 在 AD 中度升高, 在 DLB、FTD、VD 轻度升高; P-Tau 在 AD 中度升高, 在 DLB 中轻度升高, 在 FTD、VD 中不升高^[12]。T-Tau 鉴别 AD 和 DLB 的敏感性为 73%, 特异性为 90%; 鉴别 AD 和 FTD 的敏感性为 74%, 特异性为 74%; 鉴别 AD 和 VD 的敏感性为 73%, 特异性为 86%。P-Tau 鉴别 AD 和 FTD 的敏感性为 79%, 特异性为 83%; 鉴别 AD 和 VD 的敏感性为 88%, 特异性为 78%。Creutzfeldt-Jakob 痴呆病 CSF 中 $A\beta_{42}$ 水平下降, T-Tau 明显增高, P-Tau 正常, 很容易与 AD 区分开。

多数研究表明 AD 患者 CSF 中 $A\beta_{42}$ 和 T-Tau 水平维持一个稳定的水平, 不能很好的监测 AD 的病情变化。但另有报道称 P-Tau₂₃₁ 水平在 AD 患者 CSF 中随时间呈线性下降, P-Tau₂₃₁ 在 AD 晚期也会下降^[13]。在预后方面, Wallin 等^[14] 进行的一项 5 年随访研究发现, AD 患者 $A\beta_{42}$ 基线水平越低、T-Tau 和 P-Tau 基线水平越高预示临床预后更差, 认知功能下降更快, 对胆碱酯酶抑制剂治疗无反应, 具有更高的死亡率。

2.1.2 β 位点淀粉样蛋白前体裂解酶 1 (β -site APP-cleaving enzyme 1, BACE1) BACE1 是脑内最重要的 β -分泌酶, 是 APP 裂解加工过程中的关键酶。APP 在 BACE1 作用下裂解成可溶性 β -APP(sAPP β) 和 C99 片段, 然后 C99 片段在 γ -分泌酶 (另外一种 APP 裂解过程中的关键酶) 作用下裂解成 $A\beta$ 片段包括 $A\beta_{42}$ 、40 和更小的片段。研究发现 AD 患者 BACE1 活性明显高于健康对照组, MCI-AD 患者 BACE1 活性高于 MCI-MCI 和 MCI 进展为其他类型痴呆患者, 并且 BACE1 活性与 T-Tau、P-Tau₁₈₁ 和 $A\beta_{40}$ 水平呈正相关, 与 $A\beta_{42}$ 水平无关^[15]。提示 BACE1 可能在 AD 患者脑部的病理改变中起一定作用, 有望成为潜在的 AD 早期诊断指标。

2.1.3 $A\beta$ 寡聚体 (amyloid- β oligomers) 一直以来普遍认为 $A\beta$ 聚集形成的不溶性 SPs 是 AD 病理改变中的核心事件, 但

近年来很多实验提出可溶性 $A\beta$ 寡聚体比 $A\beta$ 沉积斑块的神经毒性更强, 与认知功能障碍有更强的相关性, 在 AD 发病机制中占据更重要的作用。实验发现人为合成的 $A\beta$ 寡聚体可以引起海马细胞培养液中神经元死亡, 大鼠脑内 $A\beta$ 寡聚体可以抑制海马长时程电位, 进而损害大脑学习、记忆功能。最近 Fukumoto 等^[16] 报道 AD 和 MCI 患者 $A\beta$ 寡聚体水平远高于健康对照组, 诊断的敏感性为 96%, 特异性为 68%, 比较 $A\beta$ 寡聚体和 $A\beta_{42}$ 二者的受试者工作特征曲线的曲线下面积 (area under the curve, AUC) 发现, $A\beta$ 寡聚体 AUC (0.844) 大于 $A\beta_{42}$ AUC (0.712), $A\beta$ 寡聚体的诊断准确性更高。同时 CSF 中 $A\beta$ 寡聚体水平与简易精神状态检查 (mini-mental state examination scores, MMSE) 得分呈负相关, 能够反映 AD 患者认知损害严重程度。但目前 $A\beta$ 寡聚体研究还不是很多, 定量测定方法还不成熟。

2.2 血液中的生物标记物 正常情况下每天有约 500 mL CSF 吸收入血, 血液可以间接地反应中枢神经系统的改变, 并且相对于 CSF 标本, 血液标本更容易获得, 所以针对血液中是否存在 AD 诊断相关的生物标记物也进行了大量的研究。

2.2.1 血浆中的 $A\beta$ 多数纵向研究发现血浆中 $A\beta_{42}$ 、40 水平在 AD 患者和健康者中无明显差别, 仅有少数研究发现有轻度升高, 表明血浆中 $A\beta_{42}$ 、40 不是一个很好的诊断 AD 的生物标记物。纵向研究表明血浆中 $A\beta$ 在预测 AD 的发生风险和病情监测方面发挥重要的价值。在一项大样本研究中发现 $A\beta_{42}$ 基线水平越高, 进展为 AD 的风险越大, 随访期间 $A\beta_{40}$ 水平和 $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ 下降, 预示进展为 AD 的风险增加, 当进展为 AD 后 $A\beta_{42}$ 水平和 $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ 比值急剧下降^[17]。

2.2.2 血浆中的 $A\beta$ 抗体 有学者进行转基因小鼠实验提示无论通过主动或被动免疫产生的 $A\beta$ 抗体, 在清除 $A\beta$ 和减缓认知、记忆损伤方面均起到一定作用。Gustaw-Rothenberg 等^[18] 采用抗原-抗体分离技术发现 AD 患者血清中天然抗 $A\beta$ 抗体水平明显高于健康者, 并且 AD 患者血清内解离前、后抗 $A\beta$ 抗体改变量 (即解离量) 可直接反映 AD 病程, AD 病程越早, 解离量越大, 也就更容易监测到, 因此, 血中抗 $A\beta$ 抗体可能成为一种潜在的生物标志物。

2.2.3 炎症相关的生物标记物 近年来研究表明炎症反应在 AD 发病中起重要作用, 激活的小胶质细胞和星形胶质细胞产生大量的炎性细胞因子包括白细胞介素 (IL)-1、IL-6、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 以及一些急性时相反应蛋白如 C 反应蛋白、 α 1 抗糜蛋白酶 (α 1-antichymotrypsin, ACT) 等。大量证据证明这些炎性反应可能发生在 AD 早期, 甚至在 $A\beta$ 沉积之前。一些随访研究显示, 血清或血浆中炎性细胞因子与认知功能下降有关, 高水平 ACT 可以增加认知功能减退的风险, 超敏 C 反应蛋白明显增加 AD 风险, IL-6 和 C 反应蛋白可以预测正常人群的认知功能下降^[19]。

Ray 等^[20] 采用蛋白质组学方法检测了健康者, 以及 AD、MCI、其他类型痴呆患者血浆内 120 种分泌性信号蛋白, 结果显示 18 种蛋白水平 (包括 IL-1、IL-3、IL-11 和巨噬细胞集落刺激因子) 在 AD 和 MCI 患者体内发生了明显改变, 利用这些蛋白质区分 AD 和健康者的阳性预测值为 90%, 阴性预测值为 88%, 同时其在预测 MCI 进展为 AD 方面阳性预测值达 91%, 因此, 其在 AD 诊断和疾病预测上有很好的前景。

2.3 尿液中的生物标志物 AD 相关神经丝蛋白 (alzheimer's disease associated neuronal thread protein, AD7c-NTP) 是一个相对分子质量为 41×10^3 的跨膜磷蛋白, 有研究表明神经元

AD7c-NTP 基因过表达是 AD 神经元变性损伤的早期事件,产生大量 AD7c-NTP,与核周堆积的 Tau 蛋白、磷酸化的神经纤维和神经节苷脂等共存,导致蛋白过度磷酸化而引起细胞骨架损伤、线粒体功能缺失,进而引起细胞凋亡。AD 患者尿中 AD7c-NTP 水平明显升高,且与疾病严重性呈正相关。一种被称为“7c Gold”的尿 AD7c-NTP 检测方法,诊断 AD 的敏感性和特异性很高,还能帮助老年患者作出 AD 危险性的常规临床评价,以及早期诊断和指导合理用药^[21]。

AD7c-NTP 作为 AD 的一种潜在的生物标记物的最大优势在于可直接检测尿液中的水平变化,克服了各种损伤性检查的缺点,但有关 AD7c-NTP 的结构、功能以及诊断价值目前还需要进一步的探究。

3 A β 和 Tau 蛋白检测方法新进展

3.1 ELISA 法 ELISA 法是最经典和成熟的方法。目前检测 CSF 和血浆中 A β 42、40 水平,主要有日本 WAKO 公司研发的 A β 42、40 ELISA 试剂盒和比利时 Innogenetics 公司研发的 INNOTEST A β 42 ELISA 试剂盒,其敏感性和重复性较好,在市场上已商品化。检测 CSF 中 T-Tau 主要是比利时 Innogenetics 公司研发的 INNOTEST hTau ELISA 试剂盒,已经商品化并且得到广泛应用。检测 CSF 中 P-Tau 主要有 3 种 ELISA 试剂盒,其识别不同的磷酸化位点,分别是日本三菱化学公司研发的 P-Tau199、Applied NeuroSolutions 公司研发的 P-Tau231 和比利时 Innogenetics 公司研发的 P-Tau181,但目前仅有比利时 Innogenetics 公司的 P-Tau181 ELISA 试剂盒商品化^[22]。

3.2 液态悬浮芯片技术(multi-analyte profiling, xMAP) 基于 xMAP 建立的方法可同时检测一份 CSF 标本中的不同生物标记物,典型代表商品是由比利时 Innogenetics 公司研发的 INNO-BIA AlzBio3 试剂盒,其可以同时检测 CSF 中 A β 42、T-Tau 和 P-Tau181 等 3 种生物标记物,并且 CSF 用量仅为 75 μ L^[22]。对于生物标记物的联合应用有积极意义,同时鉴于 CSF 取材困难,该方法可以大大减少标本用量。有研究发现 xMAP 法和 ELISA 法二者所得的生物标记物的数值并非一致,推测原因可能有抗体本身、抗体互相影响、抗体包被方法、校准品和孵育条件等方面的差异。尽管如此,还是可以使用校准因子来对比分析二者结果。

4 总结与展望

CSF 中 A β 和 Tau 是研究最多、最成熟的生物标记物,其在 AD 的早期诊断、预后判断、疗效评价和疾病监测等方面均具有重要价值,另外 BACE1、A β 寡聚体、血浆中 A β 及 A β 抗体、尿液中 AD7c-NTP 等新一批的生物标记物也取得了很大的成果,同时 xMAP、质谱法、蛋白组学等新型技术在生物标记物中的应用必将进一步推动和完善 AD 体液生物标志物的研究。

尽管如此,这些生物标记物在实际应用于临床前还有许多问题要解决,年龄、性别、环境、基因及健康状态等因素对生物标记物的影响,以及结果的重复性、正常参考范围、临界(Cut-off)值、如何有效联合应用各项生物标记物等均需进行更深入的分析和研究。

参考文献:

[1] 许琴华,曹非. Alzheimer 病生物标志物表达的研究进展[J]. 现代生物医学进展,2006,6(9):102-104.
[2] 孙桂丽,郑长民,张道杰,等. 阿尔茨海默病血浆生物标志物研究

进展[J]. 国际检验医学杂志,2006,27(3):267-269.

- [3] Blennow K. Cerebrospinal Fluid Protein Biomarkers for Alzheimer's Disease[J]. NeuroRx,2004,1(2):213-225.
[4] Hulstaert F,Blennow K,Ivanou A,et al. Improved discrimination of AD patients using beta-amyloid(1-42) and tau levels in CSF[J]. Neurology,1999,52(8):1555-1562.
[5] Mattsson N,Zetterberg H,Hansson O,et al. CSF biomarkers and incipient Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment[J]. Journal of the American Medical Association,2009,302(4):385-393.
[6] Sjogren M,Vanderstichele H,Agren H,et al. Tau and Abeta42 in cerebrospinal fluid from healthy adults 21-93 years of age:establishment of reference values[J]. Clin Chem,2001,47(10):1776-1781.
[7] Mattsson N,Zetterberg H,Hansson O,et al. CSF biomarkers and incipient Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment[J]. Journal of the American Medical Association,2009,302(4):385-393.
[8] Hansson O,Zetterberg H,Buchhave P,et al. Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment:a follow-up study[J]. Lancet Neurology,2006,5(3):228-234.
[9] Fagan AM,Roe CM,Xiong C,et al. Cerebrospinal fluid tau/beta-amyloid(42) ratio as a prediction of cognitive decline in nondemented older adults[J]. Arch Neurol,2007,64(3):343-349.
[10] Bouwman FH,Vander-Flier WM,Schoonenboom NS,et al. Usefulness of longitudinal measurements of beta-amyloid 1-42 in cerebrospinal fluid of patients with various cognitive and neurologic disorders[J]. Clin Chem,2006,52(8):1604-1606.
[11] Mulugeta E,Londos E,Ballard C,et al. CSF amyloid beta38 as a novel diagnostic marker for dementia with Lewy bodies[J]. Neurol Neurosurg Psychiatr,2010,82(2):160-164.
[12] VanHarten AC,Kester MI,Visser PJ,et al. Tau and p-tau as CSF biomarkers in dementia: a meta-analysis[J]. Chem Lab Med,2011,49(3):353-366.
[13] Seppala TT,Koivisto AM,Hartikainen P,et al. Longitudinal changes of CSF biomarkers in Alzheimer's disease[J]. Alzheimers Dis,2011,24(4):583-594.
[14] Wallin A,K Blennow,K Zetterberg,et al. CSF biomarkers predict a more malignant outcome in Alzheimer disease[J]. Neurology,2010,74(9):1531-1537.
[15] Mulder SD,Vander Flier WM,Verheijen JH,et al. BACE1 activity in cerebrospinal fluid and its relation to markers of AD pathology[J]. Alzheimers Dis,2010,20(1):253-260.
[16] Fukumoto H,Tokuda T,Kasai T,et al. High molecular weight beta-amyloid oligomers are elevated in cerebrospinal fluid of Alzheimer patients[J]. FASEB,2010,24(8):2716-2726.
[17] Schupf N,Tang MX,Fukuyama H,et al. Peripheral Abeta a subspecies as risk biomarkers of Alzheimer's disease[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2008,105(37):14052-14057.
[18] Gustaw-Rothenberg KA,Siedlak SL,Bonda DJ,et al. Dissociated amyloid-beta antibody levels as a serum biomarker for the progression of Alzheimer's disease:a population-based study[J]. Exp Gerontol,2010,45(1):47-52.
[19] Dik MG,Jonker C,Hack CE,et al. Serum inflammatory proteins and cognitive decline in older persons[J]. Neurology,2005,64(8):1371-1377.
[20] Ray S,Britschgi M,Herbert C,et al. Classification and prediction

of clinical Alzheimer's diagnosis based on plasma signaling proteins[J]. Nat Med, 2007, 13 (11): 1359-1362.

[21] Monte SM, Wands JR. The AD7c-ntp neuronal thread protein biomarker for detecting Alzheimer's disease[J]. Front Biosci, 2002, 1 (7): 989-996.

[22] Mikio Shoji. Biomarkers of the Dementia[J]. Alzheimer's Disease, 2011, 2011: 564321.

(收稿日期: 2012-01-08)

• 综 述 •

谷胱甘肽 S-转移酶 π 在消化道恶性肿瘤研究中的应用

牟红梅¹综述, 侯振江²△ 审校

(1. 河北省沧州市中心医院超声科 061001; 2. 沧州医学高等专科学校
医学技术系检验教研室, 河北沧州 061001)

关键词: 谷胱甘肽转移酶; 食管肿瘤; 胃肿瘤; 肝肿瘤; 肠肿瘤; 胰腺肿瘤

doi: 10. 3969/j. issn. 1671-8348. 2012. 09. 031

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)09-1095-03

谷胱甘肽 S-转移酶 (glutathione S transferases, GSTs) 是一类具有多种生理功能的同工酶, 在保护机体免受毒性和致癌剂损伤方面具有重要意义。根据 GSTs 在细胞内定位不同分为胞浆型、胞膜型、线粒体酶和白细胞三烯合成酶等 4 型, 前者又分为 GST- α 、 μ 、 π 、 θ 、 δ 等, 其中 GST- π 分布最广泛, 含量最丰富, 普遍存在于胎盘、肺、肾、乳腺、前列腺等正常组织中, 且与组织分化有关。随着对 GST- π 研究的深入及对 GST- π 检测方法灵敏度和特异性的提高, GST- π 作为肿瘤标志物和肿瘤耐药性研究越来越受到临床重视^[1]。现将 GST- π 在消化道恶性肿瘤研究中的应用综述如下。

1 食管癌

肖鹏等^[2]研究发现, 正常食管鳞状上皮 GST- π 阳性细胞主要分布于基底层, 不典型增生、原位癌、I 级鳞状细胞癌(鳞癌)核表达明显高于正常黏膜; 在癌旁组织底层中仅原位癌核表达阳性率与正常黏膜比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 在中、表层伴随食管黏膜增生程度加重核表达阳性率呈上升趋势, 尤其不典型增生和原位癌与正常和单增比较, 差异均有统计学意义 ($P = 0.025$), 提示食管癌可能起始于增殖活性较高的基底细胞层, GST- π 在食管癌旁组织中核表达分布特征支持正常食管鳞状上皮可能通过不典型增生演变为癌的规律, 为食管鳞癌的发生提供了有力证据。采用食管拉网或胃镜刷片检测食管黏膜表层脱落细胞 GST- π 表达水平, 结合常规病理诊断及临床特征对食管癌早期诊断及高危人群筛选有一定价值。李之山等^[3]报道 GST- π 表达在食管癌及癌前病变组织中增高, 其表达阳性率分别为 58.70%、79.60% ($P < 0.05$), 高分化食管鳞癌表达水平显著高于低分化食管鳞癌 ($P < 0.05$), 且与肿瘤分化程度有关, 但与淋巴结转移、TNM 分期及术后生存率无关 ($P > 0.05$); 还发现食管癌患者手术前、后血清 GST- π 水平高于健康者 ($P < 0.05$), 且术后低于术前, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 说明 GST- π 水平升高与食管鳞癌发生有关, 可能是食管上皮癌变早期标志物。因此, GST- π 检测有助于食管鳞癌早期诊断, 还可作为判断预后及选择治疗方案的有用指标。Zhu 等^[4]报道食道癌及癌前病变 GST- π 表达水平明显增高, 且随不典型增生程度递进而增加。张咏梅等^[5]检测 48 例食管癌组织中多药耐药相关蛋白 1 (MRP1) mRNA 和 GST- π mRNA 表达, 提示表达增高可能是食管癌较高临床病

理分期的标志, 随浸润程度增加表达阳性率有增高趋势, 但差异无统计学意义, 与有、无淋巴结转移和远端转移有关, 但与浸润程度无关, 联合检测有助于判断预后和指导用药, 也可作为筛选新的抗肿瘤药物、新耐药基因逆转剂以及评价其他肿瘤治疗措施的参考指标。朱伦等^[6]报道 GST- π 随食管鳞癌由低、中、高分化程度增加表达阳性率下降 (72.20%、45.70%、25.00%), 且与磷酸化的哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (p-mTOR) 表达密切相关 ($r = 0.797, P < 0.01$), 而 Ki-67 表达阳性率随肿瘤分化程度降低而增高 ($P < 0.05$), Ki-67 与 p-mTOR 表达无关。推测 Ki-67 蛋白表达亦可能不受 p-mTOR 调节, 与 Boone 等^[7]报道结果一致。联合检测 p-mTOR、GST- π 与 Ki-67 表达对判断食管鳞癌恶性程度和制定个性化化疗方案更具有临床意义。

2 胃癌

马襄等^[8]用 ABC 免疫组化法检测胃癌组织 GST- π 表达阳性率 (87.10%) 明显高于正常胃黏膜 (11.1%), 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。异型增生和肠上皮化生表达阳性率分别为 82.60%、86.90%。说明 GST- π 可作为胃癌早期诊断酶学指标, 具有中度异型增生和不完全结肠型上皮化生慢性萎缩性胃炎表达阳性率也较高, 可列为胃癌切除术相对适应证。秦芳等^[9]报道胃癌患者癌组织中 P-gp (糖蛋白)、GST- π 和拓扑异构酶 II (Topo II) 表达阳性率分别为 76.0%、85.3%、68.0%, GST- π 与患者年龄、性别、肿瘤发生部位及浸润深度无关, 而与组织学类型有关。随肿瘤恶性程度和淋巴结转移率增高 GST- π 逐渐由核表达转向浆表达, GST- π 核表达胃癌患者淋巴结转移率 (8.8%) 低于核与浆同时表达 (28.1%) 及浆表达 (52.6%) 者。原发性胃癌 GST- π 高表达 (85.3%) 说明其在多药耐药 (MDR) 中起着比 P-gp 和 Topo II 更为广泛的作用。P-gp、GST- π 高表达及 Topo II 低表达与胃癌淋巴结转移有关, 提示 P-gp、GST- π 、Topo II 是影响胃癌预后的主要因素, 可能成为有价值的预后指标。GST- π 表达强度越高, 化疗越不敏感, 生存期越短。王岩等^[10]用免疫组化法检测 46 例胃癌手术标本中癌细胞 P-gp、GST- π 、P53 表达水平, 发现胃癌 GST- π 表达阳性率与临床分期呈正相关, 而与组织学类型无关, 提示某些胃癌对化疗药物不敏感可能与 GST- π 表达增强有关。GST- π 表达越强化疗药物毒性作用降低得越甚, 肿瘤细胞对化疗药物耐