

- primers is not necessarily directed at ERIC elements[J]. Lett Appl Microbiol, 1997, 25(1): 17-21.
- [10] 陈偿, 胡超群, 张昌平, 等. ERIC-PCR 和 RAPD 技术在弧菌遗传多样性分析中的应用[J]. 中国甲壳动物学会甲壳动物学论文集, 2003, 18(4): 341-347.
- [11] Kahla-Nakbi AB, Chaieb K, Besbes A, et al. Virulence and enterobacterial repetitive intergenic consensus PCR of *Vibrio alginolyticus* strains isolated from Tunisian cultured gilthead sea bream and sea bass outbreaks[J]. Veter Microbiol, 2006, 117(2): 321-327.
- [12] Fakruddin M, Mannan KSB, Mazumdar RM, et al. Identification and characterization of microorganisms: DNA-fingerprinting methods[J]. Songklanakarin J Sci Technol, 2013, 35(4): 397-404.
- [13] Claesson MJ, Wang Q, O'Sullivan O, et al. Comparison of two next-generation sequencing technologies for resolving highly complex microbiota composition using tandem variable 16S rRNA gene regions[J]. Nucleic Acids Res, 2010, 38(22): 2001-2004.
- [14] Will C, Thürmer A, Wollherr A, et al. Horizon-specific bacterial community composition of German grassland soils, as revealed by pyrosequencing-based analysis of 16S rRNA genes[J]. Appl Environ Microbiol, 2010, 76(20): 6751-6759.
- [15] 马章林, 唐曜明, 楼许柏. 16S rRNA 在医学微生物鉴定中的应用探讨[J]. 吉林医学, 2011, 32(12): 2291-2292.
- [16] 李莉, 谢旭阳, 曹延超, 等. rRNA 在水产动物细菌性病原鉴定中的应用[J]. 生物技术通报, 2013, 4(1): 27-32.
- [17] Zorrilla I, Morinigo MA, Castro D, et al. Intraspecific characterization of *Vibrio alginolyticus* isolates recovered from cultured fish in Spain[J]. J Appl Microbiol, 2003, 95(5): 1106-1116.
- [18] Zanetti S, Deriu A, Dupre I, et al. Differentiation of *Vibrio alginolyticus* strains isolated from Sardinian waters by ribotyping and a new rapid PCR fingerprinting method[J]. Appl Environ Microbiol, 1999, 65(5): 1871-1875.
- [19] 王丽丽, 徐建国. 脉冲场凝胶电泳技术(PFGE)在分子分型中的应用现状[J]. 疾病监测, 2006, 21(5): 276-279.
- [20] Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing[J]. J Clin Microbiol
- 综述 •
- Sept, 1995, 33(9): 2233-2239.
- [21] Allard MW, Luo Y, Strain E, et al. On the evolutionary history, population genetics and diversity among isolates of *Salmonella Enteritidis* PFGE pattern[J]. PLoS one, 2013, 8(1): e55254.
- [22] Fox EM, DeLappe N, Garvey P, et al. PFGE analysis of *Listeria monocytogenes* isolates of clinical, animal, food and environmental origin from Ireland[J]. J Med Microbiol, 2011, 61(4): 540-547.
- [23] Ren C, Hu C, Luo P, et al. Genotyping of *Vibrio alginolyticus* isolates from Daya Bay by infrequent-restriction-site PCR and pulsed-field gel electrophoresis[J]. Mol Cell Probes, 2008, 22(4): 267-271.
- [24] Jakubek D, Le Brun M, Leblon G, et al. Validation of IRS PCR, a molecular typing method, for the study of the diversity and population dynamics of *Legionella* in industrial cooling circuits[J]. Lett Appl Microbiol, 2013, 56(2): 135-141.
- [25] Shin NY, Yoo JH, Park C, et al. Application of infrequent-restriction-site polymerase reaction(IRS-PCR) to the molecular epidemiologic analysis of methicillin resistant *staphylococcus aureus* (MRSA)[J]. Infect Chemother, 2011, 43(5): 396-405.
- [26] 代文霞, 沈叙庄. 低频限制性位点聚合酶链反应在细菌分型中的应用[J]. 国外医学流行病学传染病学分册, 2005, 32(1): 60-62.
- [27] Xiao X, Yan Y, Zhang Y, et al. A novel genotyping scheme for *Vibrio parahaemolyticus* with combined use of large variably-presented gene clusters(LVPCs) and variable-number tandem repeats(VNTRs)[J]. Int J Food Microbiol, 2011, 149(2): 143-151.
- [28] Li Y, Cui Y, Hauck Y, et al. Genotyping and phylogenetic analysis of *Yersinia pestis* by MLVA: insights into the worldwide expansion of Central Asia plague foci[J]. PLoS One, 2009, 4(6): e6000.
- [29] Li Y, Dai E, Cui Y, et al. Different region analysis for genotyping *Yersinia pestis* isolates from China[J]. PLoS One, 2008, 3(5): e2166.
- [30] Li Y, Cui Y, Cui B, et al. Features of variable number of tandem repeats in *yersinia pestis* and the development of a hierarchical genotyping scheme[J]. PLoS One, 2013, 8(6): e66567.

(收稿日期:2014-01-08)

## MicroRNAs 在胰腺癌研究中的新进展

杨增俊<sup>1</sup> 综述, 陈安<sup>2</sup> 审校

(1. 第三军医大学学员旅学员四营, 重庆 400038; 2. 第三军医大学西南医院  
医学检验系临床生物化学教研室, 重庆 400038)

关键词: 胰腺癌; miRNAs; 肿瘤标志物; 诊断与治疗

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.13.039

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)13-1755-04

胰腺癌是目前恶性程度最高的肿瘤之一, 其所致死亡在世界范围内居肿瘤死因的第 4 位, 是所有消化系统肿瘤中第 2 位最常见的恶性肿瘤<sup>[1]</sup>。由于起病隐匿、缺乏可靠的早期诊断标志物, 大多数胰腺癌患者发现时已处于晚期, 少有手术切除机会, 且预后很差, 5 年生存率小于 5%<sup>[2]</sup>。因此, 寻找胰腺癌特异性的早期诊断标志物显得尤为迫切。miRNAs 是一类由

17~25 个核苷酸组成的、内源性单链非编码 RNA 分子。miRNAs 不编码蛋白, 而是通过与 mRNA 的 3' 端非编码区(3' UTR)的靶向结合, 参与基因功能的调节<sup>[3]</sup>。大量的研究表明, miRNAs 与肿瘤的进展密切相关, miRNAs 通过基因表达调控影响着细胞增殖、分化、凋亡、炎性反应、应激反应等病理生理过程, 是与肿瘤发生、发展密切相关的新的调节分子家族,

在肿瘤的诊断和治疗中起着重要的作用。最近的研究发现,胰腺癌组织、细胞株、癌前病变、血浆中均存在 miRNAs 表达谱的异常<sup>[4]</sup>,提示 miRNAs 可能在胰腺癌的发生、发展机制研究、早期诊断、药物耐药性评估、预后判断等方面具有重要价值。本文就相关的研究进展作一综述。

## 1 胰腺癌 miRNAs 的表达谱

**1.1 胰腺癌组织中的 miRNAs 表达谱** 俄亥俄州立大学的 Lee 等<sup>[5]</sup>比较了人类胰腺癌组织、癌旁组织以及正常组织中的 miRNAs 表达情况后发现,大约有 100 种 miRNAs 在胰腺癌组织中存在表达异常,包括 miR-21、miR-155、miR-221、miR-222、miR-376a、miR-301 等,其中以 miR-21、miR-301 和 miR-376a 的异常表达最为显著。Bloomston 等<sup>[6]</sup>通过微阵列分析也发现,在 40 例胰腺内分泌肿瘤和 4 例腺泡癌中,有 87 种 miRNAs 表达上调,8 种 miRNAs 表达下调;而在胰导管腺癌中,30 种 miRNAs 表达上调,3 种 miRNAs 表达下调。Zhang 等<sup>[7]</sup>运用 RT-PCR 技术检测 95 种 miRNAs 在胰腺组织和细胞株中的表达水平,结果发现有 8 种与对照组样品相比显著上升,包括 miR-196a、miR-190、miR-186、miR-221、miR-222、miR-200b、miR-15b 和 miR-95。Szafranska 等<sup>[8]</sup>证实,miR-216 和 miR-217 只在胰腺组织中表达,而且在癌变组织和胰腺癌细胞株中均呈低表达;而 miR-375 在正常胰腺中高表达,但是在癌变组织中表达水平显著降低,在胰腺癌细胞株中出现表达缺失。可见,在组织学和细胞学水平的研究结果均提示胰腺癌变伴随着明显的 miRNAs 表达谱异常,组织检测 miRNAs 在胰腺癌早期诊断和筛查中的应用前景广阔。

**1.2 胰腺癌患者血浆中的 miRNAs 表达谱** 由于组织标本的获取属于有创操作,且标本采集时易受周围组织的污染而降低诊断率,在一定程度上限制了组织检测 miRNAs 的应用,研究转向外周循环中肿瘤相关性 miRNAs 的检测。Kong 等<sup>[9]</sup>运用 RT-PCR 分别检测胰腺癌患者、慢性胰腺炎患者及健康人血清中 miRNAs 的水平,发现肿瘤患者血清中 miR-21 水平远高于健康人及慢性胰腺炎患者;miR-155 和 miR-196a 水平在胰腺病变患者的血浆也显著增高。Ali 等<sup>[10]</sup>通过基因芯片分析和 qRT-PCR 比较 5 例胰腺癌患者的混合血浆与健康人血浆,发现混合血浆中有 91 种异常表达的 miRNAs,其中 miR-21、let-7 家族、miR-200 家族和 miR-146a 的变化最为突出。Liu 等<sup>[11]</sup>通过对 197 例胰腺癌患者血清 miRNAs 的分析,证实包括 miR-21、miR-99a、miR-191 等在内的 7 种 miRNAs 与胰腺癌关系十分密切。另有研究表明,胰腺癌患者血浆中 miR-221 的水平明显高于良性病变患者及健康人,接受根治手术治疗后 miR-221 水平明显下降<sup>[12]</sup>。血清中检测到的异常表达的 miRNAs 与组织几乎一致,但如何选择 miRNAs 组合以及如何提高诊断的敏感性和特异性及其在临床应用中的可行性等,还有待进一步研究。

## 2 miRNAs 与胰腺癌发生、发展的关系

miRNAs 参与细胞周期、细胞增殖、分裂、衰老、凋亡、转移和侵袭等过程的调节,根据其作用靶点和生物效应的不同将其分为癌基因或抑癌基因家族。

Park 等<sup>[13]</sup>研究发现,miR-132/-212 在胰腺癌组织中的表达显著增强,并且通过靶向作用于抑癌基因 Rb1 而抑制其表达,从而促进癌细胞的增殖。Lu 等<sup>[14]</sup>研究胰腺癌组织中 miR-301a 与 NF-κB 活化的关系发现,miR-301a 通过抑制 NF-κB 抑制因子(NF-κB-repressing factor, NκRF)的表达,实现癌组织中 NF-κB 的持续性活化。Mendell<sup>[15]</sup>报道,miR-17 通过靶向

作用于细胞周期调控因子 E2F 家族的转录因子,来促进细胞周期从 G1 期向 S 期转化。Bhatti 等<sup>[16]</sup>研究证明,miR-21 可以直接调控抑癌基因 PDCD4,在 miR-21 抑制的实验中观察到细胞增殖减少以及凋亡增加,提示 PDCD4 是 miR-21 发挥癌基因作用的一个重要靶基因。

Zhang 等<sup>[17]</sup>研究发现,miR-132 的高表达会抑制 Akt 的磷酸化和细胞周期蛋白 D1 的表达,提示 miR-132 通过抑制 Akt 信号通路发挥抑癌基因的作用。Kent 等<sup>[18]</sup>研究发现,活化的癌基因 K-ras 通过下游的 RREB1(ras-responsive element-binding protein 1)间接抑制 miR-143/145 的表达,增加胰腺癌发生的概率。另有报道称, K-ras 是 miR-217 的直接靶点,上调 miR-217 的表达可以降低 K-ras 的表达水平,并降低下游分子 Akt 的磷酸化。提示上调 miR-217 的表达可以调节 K-ras 而起到抑癌基因的作用,因此,这是胰腺癌治疗的一个潜在的靶标。

## 3 miRNAs 在胰腺癌临床诊治中的潜在应用价值

**3.1 miRNAs 与胰腺癌的早期诊断** miRNAs 稳定性优于 mRNA,能够在福尔马林固定、石蜡包埋的临床标本中进行检测,这是其作为诊断标志物的一个前提。近年来的研究表明,miRNAs 的表达谱对于精确鉴别胰腺癌组织具有重要意义。Bloomston 等<sup>[7]</sup>检测了 65 例胰腺癌和 42 例慢性胰腺炎患者中 miRNAs 的表达情况,结果显示有 22 种 miRNAs 的异常表达可以很好地鉴别组织的良恶性、准确性高达 93%。Szafranska 等<sup>[19]</sup>的实验表明,高浓度的 miR-217 只在正常胰腺组织中能够检测到,而在胰腺导管癌患者的组织中能检测到低浓度的 miR-196a。进一步的实验证实,可以通过 qRT-PCR 技术来检测冰冻标本或者穿刺活检标本中 miR-217 和 miR-196a 的表达水平来鉴别组织的良恶性。Liu 等<sup>[11]</sup>通过对 197 例胰腺癌患者血清 miR-21、miR-99a、miR-191 在内的 7 种 miRNAs 进行分析,对 I 期胰腺癌诊断的阳性率达到 96.2%,远高于 CA19-9D 的 46.2% 和 CEA 的 30.8%,对于 II 期胰腺癌的诊断阳性率为 91.7%,也比 CA19-9 的 62.5% 和 CEA 的 31.3% 高。

**3.2 miRNAs 与胰腺癌的转移、侵袭及预后评估** 大量的研究证明,miRNAs 与胰腺癌细胞的生物学特性之间有着密切的联系。Moriyama 等<sup>[20]</sup>报道,转染了 miR-21 前体的胰腺癌细胞表现出显著的增殖、组织浸润、对吉西他滨的耐药性,而转染了 miR-21 表达抑制剂的实验组表现则完全相反。Yu 等<sup>[21]</sup>研究发现,转染了 miR-17-5p 前体的胰腺癌细胞表现出增强的增殖和侵犯能力,并通过促进淋巴转移和局部浸润导致患者不良的预后。还有报道称,miR-17-5p 通过抑制 HMG box-containing protein 的表达来促进肿瘤细胞的迁移和侵袭。Woods 等<sup>[22]</sup>报道,miR-17-92 通过将 E2F 的转录平衡由凋亡性的 E2F1 向增生性的 E2F3 移位来促进细胞的增殖。Li 等<sup>[23]</sup>报道,胰腺癌的侵袭性与表皮生长因子受体 EGFR 的表达和 NF-κB 的活化有关,miR-146a 的重新表达可以下调 EGFR 和 NF-κB 调控的白介素受体相关激酶 1 (IRAK-1) 的表达,降低癌细胞的侵袭性。另外,使用抗癌药物 DIM 或异黄酮治疗胰腺癌之后,miR-146a 的表达会上调,同时 EGFR、MTA-2、IRAK-1 和 NF-κB 的表达均受到抑制,导致胰腺癌细胞侵袭性下降。

Kenaga 等<sup>[24]</sup>研究发现,高表达 miR-203 的患者经过治疗性切除术后的平均生存时间和 5 年生存率均明显低于低表达组,而且 miR-203 表达极高的 20% 患者表现出更差的预后。Kong 等<sup>[9]</sup>的实验发现,miR-196a 在 III、IV 期胰腺癌患者血浆中的水平与早期患者相比显著升高,另外,高 miR-196a 水平的

患者平均生存时间为 6.1 个月 (95% CI 4.49~7.72), 与低水平患者的 12 个月 (95% CI 5.92~18.08) 相比明显缩短。Iorio 等<sup>[25]</sup> 报道, miR-145 和 miR-21 在不同增殖指数和不同发展阶段的肿瘤组织中的表达情况存在显著的差异, 提示它们与肿瘤的预后密切相关。

**3.3 miRNAs 与胰腺癌的靶向治疗** 目前研发的各种机制的化学治疗药物在肺癌、乳腺癌等实体肿瘤的Ⅱ、Ⅲ期临床研究显示出明显的疗效, 然而却对胰腺癌患者无效, 这与胰腺癌对相关化疗药物耐药是分不开的。多项研究显示, miRNAs 的水平与化疗药物耐药有明显相关性, 通过调节 miRNAs 在胰腺癌细胞中的表达有望达到治疗胰腺癌的目的。

Ohuchida 等<sup>[26]</sup> 研究发现, 胰腺癌一线治疗药物吉西他滨对于实验患者的控制率仅为 49.2%, 需要寻找一种标志分子来筛选对于吉西他滨敏感的患者。进一步研究发现吉西他滨治疗组中高表达 miR-142-5p 和 miR-204 的患者的生存期明显长于其他组患者, 提示 miR-142-5p 和 miR-204 可能作为筛选患者进行吉西他滨治疗的标志物。Zhang 等<sup>[27]</sup> 的体外研究证实, miR-214 通过下调抑癌基因 ING4 从而促进胰腺癌细胞对吉西他滨的抵抗力, 而 miR-15a 通过抑制 WNT3A 和 FGF7 两个基因来抑制癌细胞的增殖和化疗抗性。Ali 等<sup>[10]</sup> 分析 4 个化疗抗性的人类胰腺癌细胞株的 miRNAs 表达情况发现, 在化疗抗性的细胞株中 miR-21 的表达水平与亲代细胞相比显著升高。miR-21 的高表达可以导致胰腺癌细胞的耐药性, 而当下调其表达量时癌细胞会表现出完全相反的药物耐受性。另有报道称, miR-200b 和 miR-200c 的活性会反转胰腺癌细胞的 EMT 表型, 从而引起对吉西他滨耐受的癌细胞对吉西他滨的反应<sup>[28]</sup>。

#### 4 小结

调控基因 miRNAs 的发现和逐步深入研究, 为胰腺癌的早期诊断和有效治疗带来新的希望。miRNAs 在胰腺癌中的差异性表达, 肯定了它在胰腺癌治疗、诊断及预后中扮演的重要角色, 但其中的作用机制还不太明了。miRNAs 可以作用于靶基因, 而靶基因又可以调节 miRNAs 的表达, 所以 miRNAs 不会是点对点式的在肿瘤的发生、发展中发挥作用, 可能是多个 miRNAs 和多个靶基因相互调节的结果。所以, 进一步阐明 miRNAs 在胰腺癌中的作用, 将为胰腺癌的临床诊疗提供更多有效的方法。

#### 参考文献

- Jemal A, Siegel R. Cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2012, 62 (2): 283-298.
- Zuckerman DS, Ryan DP. Adjuvant therapy for pancreatic cancer: a review[J]. Cancer, 2009, 112(2): 243-249.
- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *celegans* heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14[J]. Cell, 1993, 75(8): 843-854.
- Thomson JM, Newman M, Parker JS, et al. Extensive posttranscriptional regulation of microRNAs and its implications for cancer[J]. Genes Dev, 2006, 20(16): 2202-2207.
- Lee EJ, Gusev Y, Jiang J, et al. Expression profiling identifies microRNA signature in pancreatic cancer[J]. Int J Cancer, 2007, 120 (10): 1046-1054.
- Bloomston M, Frankel WL, Petrocca F, et al. MicroRNA expression pattern to differentiate pancreatic adenocarcinoma from normal pancreas and chronic pancreatitis[J]. JAMA, 2007, 297(17): 1901-1908.
- Zhang YQ, Li M, Wang H, et al. Profiling of 95 Micro RNAs in pancreatic cancer cell lines and surgical specimens by real-time PCR analysis[J]. World J Surg, 2009, 33(4): 698-709.
- Szafranska AE, Davison TS, John J, et al. MicroRNA expression alterations are linked to tumorigenesis and non-neoplastic processes in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Oncogene, 2007, 26 (30): 4442-4452.
- Kong X, Du Y, Wang G, et al. Detection of differentially expressed microRNAs in serum of pancreatic ductal adenocarcinoma patients: miR-196a could be a potential marker for poor prognosis [J]. Dig Dis Sci, 2010, 55(6): 602-609.
- Ali S, Almhanna K, Chen W, et al. Differentially expressed miRNAs in the plasma may provide a molecular signature for aggressive pancreatic cancer[J]. Am J Transl Res, 2010, 3(1): 28-47.
- Liu R, Chen X, Du Y, et al. Serum MicroRNA expression profile as a biomarker in the diagnosis and prognosis of pancreatic cancer [J]. Clin Chem, 2012, 58(6): 610-618.
- Kawaguchi T, Komatsu S. Clinical impact of circulating miR-221 in plasma of patients with pancreatic cancer[J]. Br J Cancer, 2013, 108(3): 361-369.
- Park JK, Henry JC, Jiang J, et al. miR-132 and miR-212 are increased in pancreatic cancer and target the retinoblastoma tumor suppressor[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2011, 406 (4): 518-523.
- Lu Z, Li Y, Takwi A, et al. miR-301a as an NF- $\kappa$ B activator in pancreatic cancer cells[J]. EMBO J, 2011, 30(1): 57-67.
- Mendell JT. MiRNA roles for the miR-17-92 cluster in development and disease[J]. Cell, 2008, 133(2): 217-222.
- Bhatti I, Lee A, James V, et al. Knockdown of microRNA-21 inhibits proliferation and increases cell death by targeting programmed cell death 4 (PDCD4) in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. J Gastrointest Surg, 2011, 15(1): 199-208.
- Zhang S, Hao J, Xie F, et al. Downregulation of miR-132 by promoter methylation contributes to pancreatic cancer development [J]. Carcinogenesis, 2011, 32(10): 1183-1189.
- Kent OA, Chivukula RR, Mullendore M, et al. Repression of the miR-143/145 cluster by oncogenic Ras initiates a tumor-promoting feed-forward pathway[J]. Genes Dev, 2010, 24(24): 2754-2759.
- Szafranska AE, Doleshal M, Edmunds HS, et al. Analysis of microRNAs in pancreatic fine-needle aspirates can classify benign and malignant tissues[J]. Clin Chem, 2008, 54(10): 1716-1724.
- Kent OA, Mullendore M, Wentzel EA, et al. A resource for analysis of microRNA expression and function in pancreatic ductal adenocarcinoma cells[J]. Cancer Biol Ther, 2009, 8(21): 2013-2024.
- Yu J, Ohuchida K, Mizumoto K, et al. microRNA miR-17-5p is overexpressed in pancreatic cancer, associated with a poor prognosis, and involved in cancer cell proliferation and invasion[J]. Cancer Biol Ther, 2010, 10(8): 748-757.
- Woods K, Thomson JM, Hammond SM. Direct regulation of an oncogenic micro-RNA cluster by E2F transcription factors[J]. J Biol Chem, 2007, 282(20): 2130-2134.
- Li Y, Vandenboom TG, Wang Z, et al. miR-146a suppresses invasion of pancreatic cancer cells[J]. Cancer Res, 2010, 70(14): 1486-1495.
- Kenaga N, Ohuchida K, Mizumoto K, et al. MicroRNA-203 expression as a new prognostic marker of pancreatic adenocarcinoma

- ma[J]. Ann Surg Oncol, 2010, 17(12): 3120-3128.
- [25] Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer[J]. Cancer Res, 2005, 65(6): 7065-7070.
- [26] Ohuchida K, Mizumoto K, Kayashima T, et al. MicroRNA expression as a predictive marker for gemcitabine response after surgical resection of pancreatic cancer[J]. Ann Surg Oncol, 2011, 18(22): 2381-2387.
- [27] Zhang XJ, Ye H, Zeng CW, et al. Dysregulation of miR-15a and

## • 综述 •

# D-二聚体检测在静脉血栓栓塞症诊断中的应用

杨银芳<sup>1</sup> 综述, 李燕平<sup>2</sup> 审校

(1. 兰州大学第一临床医学院, 甘肃兰州 730000; 2. 兰州大学第一医院检验科, 甘肃兰州 730000)

**关键词:** D-二聚体; 深静脉血栓形成; 肺栓塞; 临床应用

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.13.040

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2014)13-1758-03

静脉血栓栓塞症(venous thromboembolism, VTE)包括深静脉血栓形成(deep venous thrombosis, DVT)和肺栓塞(pulmonary embolism, PE), 是严重危害人类健康的常见疾病之一, 具有高发病率和高致死率, 因此临床医生对 VTE 患者进行早期及时准确地诊断和规范化治疗具有重要的临床意义<sup>[1]</sup>。D-二聚体(D-dimer)是凝血酶及因子Ⅲ作用的交联纤维蛋白经纤溶酶降解作用后所形成的终末产物, 是继发性纤溶的特有代谢产物。当机体的凝血和纤溶系统被激活时, 血液中的 D-二聚体浓度增加。近年来, 已有大量的临床研究证明, D-二聚体在机体的各种高凝状态及血栓性疾病时均有增高, D-二聚体检测的应用已逐渐扩展到更多的领域。目前, 虽然 D-二聚体用于 VTE 的诊断时特异性不高, 同时也不能单独用于对 VTE 的确诊, 但由于其具有高度敏感性和较高的阴性预测值, 可有效地应用于 DVT 和 PE 的排除诊断<sup>[2]</sup>。本文就 D-二聚体检测在 VTE 诊断中的应用作一简要综述。

## 1 D-二聚体的形成机制

D-二聚体(D-dimer)是凝血酶及因子Ⅲ作用的交联纤维蛋白在纤溶酶的作用下产生的一种特异性降解产物, 其主要反映体内纤维蛋白的溶解功能。当体内有纤维蛋白凝块形成时, 无活性的纤溶酶原即被激活为有活性的纤溶酶, 从而启动纤维蛋白的溶解过程。纤溶酶降解纤维蛋白凝块, 可形成各种可溶性片段, 最终形成纤维蛋白产物。此纤维蛋白产物的成分包括 X-寡聚体、D-二聚体、片段 E 和中间片段。其中在 X-寡聚体和 D-二聚体中均含有 D-二聚体单位。因此, 血浆 D-二聚体的形成及其水平的增高反映了血管内血栓形成及继发性纤溶的发生。

## 2 D-二聚体的检测方法

目前, D-二聚体的检测方法有多种, 但总的来说都是基于免疫学的原理, 检测抗原含量。临床常用的分析方法有胶乳凝集法、酶联免疫吸附法(ELISA)和胶体金免疫渗滤法。其中, 胶体金免疫渗滤法是一种较新发展的 D-二聚体检测方法<sup>[3]</sup>。上述 3 种方法各具特点, 其中, 胶乳凝集法简便快捷, 适用于急诊检验, 但只能用于进行半定量检测, 同时其敏感性较 ELISA 法低。ELISA 法敏感性高, 测量精度高, 同时可进行定量测

miR-214 in human pancreatic cancer[J]. J Hematol Oncol, 2010, 1(1): 46-48.

- [28] Ali S, Ahmad A, Banerjee S, Padhye S, et al. Gemcitabine sensitivity can be induced in pancreatic cancer cells through modulation of miR-200 and miR-21 expression by curcumin or its analogue CDF [J]. Cancer Res, 2010, 70(35): 3606-3617.

(收稿日期: 2014-01-22)

定, 缺点是必须严格按照要求进行操作, 其操作步骤复杂, 耗时耗力, 不能满足临床急诊检验的需要。胶体金免疫渗滤法则结合前两种检测方法的优点, 操作简便快速, 同时又可进行定量分析, 可随时检测单个或成批标本。随着全自动血凝仪的广泛应用, D-二聚体检测已更加准确快速, 而且检测结果也更加可靠。总的来说, D-二聚体检测方法具有较高的灵敏度和较高的阴性预测值, 但其特异度较低, 因此目前临幊上通常是将 D-二聚体浓度超过一定的临界值作为某些疾病的排除检测指标, 而并非是诊断指标。

## 3 D-二聚体检测在 VTE 诊断中的应用

作为体内高凝状态和血栓形成的分子标志物之一, D-二聚体浓度的升高提示体内的高凝状态及继发性纤溶活性增强。DVT 和 PE 往往缺乏特异性的临床症状和体征, 仅仅凭借患者的临床表现不足以排除或确定 VTE 的诊断。目前, 临幊的基本共识是 D-二聚体对 DVT 和 PE 的排除诊断颇有价值。

**3.1 DVT** DVT 是血液在深静脉内不正常凝结所引起的一种静脉回流障碍性疾病, 是一种常见病、多发病, 其致残率、病死率高, 常常多发生于下肢。据有关统计, 美国每年 DVT 发病人数超过 100 万, 有超过 20 万的人因并发肺栓塞而死亡, 80 岁以上的 DVT 发病率为 10.7%<sup>[4]</sup>, 其中, 有一半以上的血栓栓塞性事件都和 DVT 密切相关。尽管大约有 50%~80% 的 DVT 患者没有临床表现, 但因其可并发远期下肢深静脉功能不全以及猝死率极高的肺栓塞, DVT 如未得到早期及时规范化的治疗, 极易导致血栓后综合征(post-thrombotic syndrome, PTS), 严重者会显著影响患者的生活质量甚至最终导致患者死亡。因此, 临幊医生对 DVT 的快速准确诊断和对 DVT 患者进行及时适当的治疗是非常重要的。

目前, 诊断 DVT 的金标准是静脉造影。当 DVT 的诊断可疑时, 此时应作静脉造影加以确诊, 如 DVT 一旦漏诊, 可因导致肺栓塞而死亡。然而在临幊实际工作中, 因其价格昂贵、具有侵袭性, 对人体有创伤, 很少使用静脉造影检测。研究表明, D-二聚体浓度的检测是 DVT 筛查的一种有效手段<sup>[5]</sup>。对所有怀疑 DVT 的患者均应进行 D-二聚体检测, 用于初步排除 PE 或 DVT。D-二聚体小于 500 μg/L(ELISA 法)的阴性预测