

- [12] 刘中国,王艳燕,莲芸,等.支气管哮喘血清E-选择素与IgE的相关性研究[J].中华微生物学和免疫学杂志,2001,21(4):431-434.
- [13] 梁桂珍,李放娟,侯穗波,等.1625例变态反应性疾病过敏原检测结果分析[J].实用临床医学,2005,6(1):14-16.
- [14] 孟昭和,沈霞,黎明,等.CAP系统检测在变应性鼻炎的临床应用[J].中国中西医结合耳鼻咽喉科杂志,1999,7(1):18-19.
- [15] 王莉,李力,李增齐,等.过敏性鼻炎患者血清sIgE和ECP水平的关系探讨[J].西北国防医学杂志,1999,20(3):199-200.
- [16] 谢龙山,余保平,余秀兰.尘螨刺激对特应质母亲的新生儿脐血单个核细胞分泌特异性IgE的影响[J].广东医学,2005,26(4):493-496.

• 综述 •

Tau蛋白与创伤性颅脑损伤

王玉飞 综述, 杨晓莉, 郑静晨 审校
(武警总医院检验科, 北京 100039)

关键词: Tau蛋白; 创伤性颅脑损伤; 生物标志物

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.01.034

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)01-0078-03

创伤性颅脑损伤(TBI)已成为当今社会威胁人类生命的主要疾病之一,准确判断TBI后脑损害严重程度并评估预后对于临床治疗十分重要。目前的临床和影像学技术尚不能准确评估脑损伤程度,也难以判断预后,仍需要探索新的辅助手段,寻找简便易行的观察指标是研究颅脑外伤的一个重要课题。近年来对TBI的基础研究较多,神经系统中一些特异性蛋白与TBI的相关性研究有很大的进展。Tau蛋白是一种神经元微管相关蛋白,具有促进微管蛋白聚合成微管和稳定微管结构的作用。已有研究结果显示,Tau蛋白可作为TBI的生物标志物,用于TBI病情严重程度及预后的判断,具有重要的临床意义。

1 Tau蛋白的结构与功能

Tau蛋白属于微管相关蛋白家族,主要存在于神经元细胞的轴突。此外,Tau蛋白也可在树突中发挥生理作用^[1]。人Tau蛋白位于17号染色体长臂2区1带(17q21),含有16个外显子。根据Tau蛋白与微管的相互作用和/或它们的氨基酸性质,可将Tau分子分为3个结构域:N末端酸性区,脯氨酸富含区和C末端功能区。C末端是与微管蛋白的结合部位,也称为“结合区”。脯氨酸富含区含有大量的磷酸化位点,可与包含SH3结构域的蛋白相互作用。N末端酸性区又称为“突出区域”,可与其他细胞骨架及细胞膜骨架结合。在健康成人大脑,因编码基因mRNA的翻译后修饰不同,Tau蛋白可形成6种同功异构体。这6种异构体主要表现为N端插入序列数目的不同(0N/1N/2N)以及微管结合重复区(3R/4R)数目的差异,每个异构体含有3(3R)或4个(4R)可与微管结合的重复区域。

Tau蛋白的主要功能:(1)结合微管等细胞骨架蛋白,促进微管形成。Tau蛋白结合的微管蛋白可作为微管组装早期的核心,进而促进其他微管蛋白在此核心上延伸聚集形成微管。(2)维持已形成微管的稳定性,降低微管蛋白的解离,并诱导微管成束。(3)与其他蛋白相互作用,包括蛋白磷酸酶、酪氨酸激

酶、Ser/Thr蛋白激酶等,Tau蛋白可调节这些蛋白的定位和功能^[2]。此外,Tau蛋白还在神经系统的生成和轴突的信息传递中也起着重要的作用。

2 Tau蛋白与颅脑损伤

2.1 Tau蛋白可作为颅脑损伤严重程度及预后评估的指标Tau蛋白是一种存在于神经细胞内的蛋白,在轴突处浓度最高。正常情况下,血清和脑脊液中Tau蛋白的浓度极低。轴突损伤是TBI中比较常见的一种损伤形式,也是TBI预后不良的主要原因之一,可导致长期的脑功能受损。轴突受到损伤后Tau蛋白则会从神经细胞释放入脑脊液中。脑挫裂伤、弥漫性轴索损伤等原发性颅脑损伤和脑水肿等继发性颅脑损伤也可导致神经细胞坏死、崩解,Tau蛋白可释放入细胞间隙和脑脊液中。同时,血脑屏障的破坏和通透性改变可使某些蛋白成分易通过血脑屏障释放入血液和脑脊液中,导致脑损伤患者的血清和脑脊液中Tau蛋白浓度升高。这为脑损伤后检测脑脊液和血液中Tau蛋白的浓度提供了理论依据。Zemlan等^[3]对15例急性弥漫性轴索损伤患者脑脊液中的Tau蛋白浓度进行了检测。与对照组相比,脑损伤患者脑脊液中Tau蛋白浓度增加了1000倍以上,而且Tau蛋白浓度与损伤的严重程度呈正相关。研究表明,脑脊液中Tau蛋白的浓度可以反映脑损伤的严重程度。Franz等^[4]观察29例重度TBI患者伤后不同时间点脑脊液中Tau蛋白的浓度,发现Tau蛋白在创伤后很快升高,到第2周时达高峰,然后开始缓慢下降,伤后6周时Tau蛋白水平恢复到正常。Tau蛋白的动态变化可能反映了脑损伤后不同的病理生理情况。除了可用于判断颅脑损伤的严重程度,Tau蛋白还可用于TBI患者的预后评估。Ost等^[5]对39例重度TBI患者进行前瞻性研究,根据受试者脑脊液Tau蛋白浓度与格拉斯哥预后评分制成的受试者工作特征曲线分析显示,伤后2~3d脑脊液Tau蛋白水平大于702 pg/mL判断预后不良和良好的灵敏度为83%,特异度为69%,伤后2~3d脑脊液Tau蛋白水平大于2126 pg/mL判断死亡和

生存的灵敏度为 100%，特异度为 81%。研究表明脑脊液中 Tau 蛋白浓度与患者预后相关性较好 ($R=0.42, P<0.001$)，格拉斯哥预后评分越低，脑脊液 Tau 蛋白浓度越高。之后，又有多名学者的研究结果表明脑脊液中 Tau 蛋白与颅脑损伤严重程度和预后密切相关^[6-7]。与脑脊液相比，有关血清 Tau 蛋白水平的实验研究相对较少。Liliang 等^[8]对 34 例重度 TBI 患者的血清 Tau 蛋白进行了研究，结果表明血清 Tau 蛋白浓度也与 TBI 伤情严重程度相关。因此，脑脊液和血清中 Tau 蛋白水平与 TBI 的严重程度及预后的密切相关。除了重度 TBI，轻度 TBI(mTBI)也日益引起了大家的关注。mTBI 有着持续、渐进、长期的破坏性影响，越来越多的证据显示，mTBI 可导致长期的灰质和白质萎缩，加速年龄相关的神经变性，并增大患阿尔茨海默病(AD)、帕金森氏病和运动神经元疾病的风险性。持续的 mTBI 可发展成为慢性创伤性脑病(CTE)^[9]。近年来，CTE 日益引起人们的重视，职业军人、运动员以及有颅脑外伤病史的人群患 CTE 的风险明显增加，有新闻报道将 CTE 称为“赛场硬汉的头号杀手”。目前，CTE 只能在尸检时确诊。与其他神经退行性疾病相比，CTE 存在两个特征性改变：脑血管周围的神经元内的 Tau 蛋白螯合，以及脑沟底部细胞 Tau 蛋白聚集。因此，利用针对 Tau 蛋白的成像、脑脊液和血液生物标记来对慢性创伤性脑病进行诊断和监测具有重要的意义和应用前景^[10]。已有研究结果显示，爆破和运动等引起的 mTBI 时，血清中 Tau 蛋白的浓度发生改变^[11-12]。2014 年，Shahim 等^[12]在 JAMA Neurol 上发表的研究表明，职业冰球运动员发生运动相关的脑震荡与急性轴突和星形胶质细胞的损伤相关，监测血清 Tau 蛋白的浓度可作为判断运动员是否适合重返训练的指标。因此，如果能够通过监测 Tau 蛋白的浓度从而在早期预防控制 CTE 病情的发展将具有重要的意义。

2.2 颅脑损伤与 Tau 蛋白的过度磷酸化 磷酸化是 Tau 蛋白最常见的翻译后修饰方式，在许多情况下磷酸化可以调节 Tau 蛋白结合微管或细胞膜。目前，在 Tau 分子中已经发现了 85 个磷酸化位点，不同位点的磷酸化对 Tau 蛋白功能的影响不同。Tau 蛋白的磷酸化主要受磷酸激酶和磷酸酯酶的调控，受累神经元内磷酸激酶和(或)蛋白磷酸酯酶磷酸化系统失衡是导致 Tau 蛋白异常过度磷酸化的主要生化机制。Tau 蛋白只有在正常磷酸化时才具有生物学功能。Tau 蛋白的异常过度磷酸化，可引起微管解聚，影响物质在胞体和轴突树突之间的运输，最终导致神经元死亡，而这些与创伤性脑病的发生关系密切。Tran 等^[13]的研究发现，TBI 后，可致 Tau 蛋白磷酸化的数种激酶在轴突内异常聚集，抑制激酶的活性可减少损伤轴突内磷酸化 Tau 蛋白的积聚。后期的研究将关注是否减少磷酸化 Tau 蛋白将有益于脑外伤的恢复。而就在 2015 年 3 月的 Brain 杂志上，Shultz 等^[14]的研究显示，亚硒酸钠通过降低过度磷酸化 Tau 蛋白的浓度可促进发生颅脑外伤大鼠的恢复和预后。这也提示，过度磷酸化的 Tau 蛋白可成为 TBI 治疗的一个新的靶点。

2.3 Tau 蛋白与颅脑损伤后 AD 的关系 AD 是一种常见的神经退行性疾病，临床表现为进行性认知障碍、记忆能力损害、语言及社交功能减退，乃至人格改变及生活能力丧失等，最终会导致死亡。AD 的病因和发病机制目前还没有形成最后的定论，但是研究表明，过度磷酸化的 Tau 蛋白可作为 AD 的病理标志物，而且脑脊液中 Tau 蛋白浓度的变化可用于 AD 诊断和预后评估^[15]。TBI 与 AD 的发病相关^[16-17]。Nenetz 等^[18]

对 1 283 例既往有过 TBI 记录的病患进行回顾性研究，发现颅脑损伤可使 AD 的发病时间提前 8 年。由于 Tau 蛋白在 AD 发生过程中的重要作用，已有多个研究将 Tau 蛋白作为靶位药物用于 AD 的治疗。Cheng 等^[19]的研究结果显示，减少 Tau 蛋白的浓度有助于减缓轻度 TBI 小鼠的空间学习和记忆障碍。这也提示，降低 Tau 蛋白的浓度有助于减缓 TBI 后 AD 的发生。

3 Tau 蛋白的检测方法

目前检测 Tau 蛋白的方法有：酶联免疫吸附法、荧光免疫测定法、化学发光免疫法、放射免疫分析法或免疫放射测定法。测定原理相同，都是抗原抗体夹心法，可用于检测脑脊液、血液、组织等标本，各有优缺点。荧光免疫测定法是以荧光色素标记的特异性抗体与待测抗原结合，测定荧光的强度以计算出标本中抗原的浓度。此法灵敏度较高，具有良好的可重复性，能实现自动化检测，但仪器设备价格昂贵，因此不易于普及，尤其是在基层医院。相对来说，酶联免疫吸附法由于具有操作简便、检测时间短、无放射性污染、应用范围广、价格低廉等优点，更适于临床常规应用。随着检测技术发展，基于纳米金、电化学、光导纤维等的免疫学检测方法相继出现，这些方法大大提高了 Tau 蛋白的检测限，使得 Tau 蛋白的检测更加灵敏特异。

正常脑脊液中 Tau 蛋白的浓度为 (119.4 ± 30.4) ng/L，血清中 Tau 蛋白的浓度为 (8.1 ± 20.8) ng/L，但由于检测标本、时间窗及检测的方法不同，检测结果可能稍有不同。脑脊液中 Tau 蛋白浓度随着年龄的增长有缓慢增高的趋势，但与性别无关。

4 小结

TBI 后脑损伤程度的定量评估及对疾病转归进行早期预测已成为临床关注的热点问题，而生物标志物的筛选研究是其中的一个重要方面。TBI 后 Tau 蛋白的浓度在脑内增高并可大量出现在脑脊液内，是神经元损伤时十分有用的诊断标志物。随着检测技术的发展和成本的降低，Tau 蛋白的检测可作为判断颅脑损伤严重程度及预测预后的重要临床指标，尤其是对于较难以用影像学技术检测的弥漫性轴索损伤和 mTBI 这类脑损伤更是具有重要的应用前景。

参考文献

- [1] Zempel H, Luedtke J, Kumar Y, et al. Amyloid- β oligomers induce synaptic damage via Tau-dependent microtubule severing by TTLL6 and spastin [J]. EMBO J, 2013, 32(22): 2920-2937.
- [2] Mietelska-Porowska A, Wasik U, Goras M, et al. Tau protein modifications and interactions: their role in function and dysfunction [J]. Int J Mol Sci, 2014, 15(40): 4671-4713.
- [3] Zemlan FP, Rosenberg WS, Luebbe PA, et al. Quantification of axonal damage in traumatic brain injury: affinity purification and characterization of cerebrospinal fluid tau proteins [J]. J Neurochem, 1999, 72(7): 741-750.
- [4] Franz G, Beer R, Kampfl A, et al. Amyloid beta 1-42 and tau in cerebrospinal fluid after severe traumatic brain injury [J]. Neurology, 2003, 60(9): 1457-1461.
- [5] Ost M, Nylén K, Csajbok L, et al. Initial CSF total tau correlates with 1-year outcome in patients with traumatic brain injury [J]. Neurology, 2006, 67(9): 1600-1604.
- [6] Tsitsopoulos PP, Marklund N. Amyloid- β peptides and Tau protein as biomarkers in cerebrospinal and interstitial fluid following traumatic brain injury: a review of experimental and clinical stud-

- ies [J]. Front Neurol, 2013, 4(1): 79-81.
- [7] McKee AC, Daneshvar DH. The neuropathology of traumatic brain injury [J]. Handb Clin Neurol, 2015, 127(1): 45-66.
- [8] Liliang PC, Liang CL, Weng HC, et al. Tau proteins in serum predict outcome after severe traumatic brain injury [J]. J Surg Res, 2010, 160(2): 302-307.
- [9] Goldstein LE, McKee AC, Stanton PK. Considerations for animal models of blast-related traumatic brain injury and chronic traumatic encephalopathy [J]. Alzheimers Res Ther, 2014, 6(1): 64-65.
- [10] Barrio JR, Small GW, Wong KP, et al. In vivo characterization of chronic traumatic encephalopathy using [F-18]FDDNP PET brain imaging [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2015, 112(16): E2039-2047.
- [11] Liu MD, Luo P, Wang ZJ, et al. Changes of serum Tau, GFAP, TNF- α and malonaldehyde after blast-related traumatic brain injury [J]. Chin J Traumatol, 2014, 17(3): 317-322.
- [12] Shahim P, Tegner Y, Wilson DH, et al. Blood biomarkers for brain injury in concussed professional ice hockey players [J]. JAMA Neurol, 2014, 71(6): 684-692.
- [13] Tran HT, Sanchez L, Brody DL. Inhibition of JNK by a peptide inhibitor reduces traumatic brain injury-induced tauopathy in transgenic mice [J]. J Neuropathol Exp Neurol, 2012, 71(2): 116-129.
- [14] Shultz SR, Wright DK, Zheng P, et al. Sodium selenate reduces hyperphosphorylated tau and improves outcomes after traumatic brain injury [J]. Brain, 2015, 138(12): 1297-1313.
- [15] Rosenmann H. CSF biomarkers for amyloid and tau pathology in Alzheimer's disease [J]. J Mol Neurosci, 2012, 47(1): 10-14.
- [16] Sivanandam TM, Thakur MK. Traumatic brain injury: a risk factor for Alzheimer's disease [J]. Neurosci Biobehav Rev, 2012, 36(5): 1376-1381.
- [17] Giunta B, Obregon D, Velisetty R, et al. The immunology of traumatic brain injury: a prime target for Alzheimer's disease prevention [J]. J Neuroinflammation, 2012, 9(2): 185-187.
- [18] Nenetz PN, Leibson C, Naessens JM, et al. Traumatic brain injury and time to onset of Alzheimer's disease: a population-based study [J]. Am J Epidemiol, 1999, 149(1): 32-40.
- [19] Cheng JS, Craft R, Yu GQ, et al. Tau reduction diminishes spatial learning and memory deficits after mild repetitive traumatic brain injury in mice [J]. PLoS One, 2014, 9(12): e115765.

(收稿日期:2015-06-20)

· 综述 ·

临床微生物自动化的现状与展望

肖学会 综述, 陈学兵 审校

(湖北省荆门市第一人民医院检验科, 湖北荆门 448000)

关键词: 微生物技术; 自动化; 现状

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.01.035

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2016)01-0080-03

传统的微生物诊断主要包括病原菌的培养、鉴定、药敏试验,耗时较长无法满足临床对快速诊断的需求^[1]。虽然部分医院的细菌鉴定和药敏已经实现了自动化,但标本的接种、划线、分离、培养依旧靠手工操作。除少数发达国家外,极少有实验室达到了临床微生物的整体自动化。

随着科学技术的进步,临床微生物的自动化的时代已经来临。尤其是基质辅助激光解析离子飞行质谱的出现及液体转运培养基的使用^[2-3],为临床微生物的自动化提供了巨大的可能性。

1 阻碍临床微生物的自动化的几个因素

1.1 临床微生物标本复杂 临床生化、免疫和临床血液学以血标本为主,以真空采血管采集和传输,标本处理易于标准化和处理。临床微生物标本则不然,首先标本类型繁杂,既有液体类型的血液、体液标本,也有非液体类型的组织、大便等标本。其次是采集标本的容器大小、形态、容积各异。此外,标本的采集和运送方式亦是多种多样,如呼吸道的咽拭子在咽部采集,以运送培养基运送。血培养标本则需采集外周静脉血,注入特制的血培养瓶后运送。标本的处理复杂,有的标本需离心浓缩,有的标本需酶消化处理,有的标本需半定量接种,有的标本需定量接种。依据目标分离菌的不同特性,标本还需选择合适的培养基,放置在不同的温度、不同的气体环境中培养。依据不同微生物生长速度不同,在长短不一的生长时间内对目标

菌进行观察。

1.2 机器无法取代人的判断 微生物检验操作过程中,每一步皆离不开人的经验性判断。如接种时平板类型的选择、划线分区方式,尤其是平板上生长菌落中可疑菌落与正常菌落的筛选^[4],生化反应阴阳性的判读,血培养阳性污染菌的区分等,现行的仪器尚无法完全取代人脑的功能。

1.3 自动化的成本高 自动化设备占用空间大,硬件投入成本高,中小医院与经济不发达地区难以实现。由于临床微生物检验标本量不及临床生化和临床免疫学检验的标本量大,自动化设备虽能减轻工作量,但不能增加检验科的收入,加上临床微生物检验的试剂耗材支出比远高于临床生化检验,这也是导致临床微生物自动化普及不广的原因之一。

2 推动临床微生物自动化的几个因素

2.1 临床微生物标本量的增加 由于人口老龄化,多重耐药菌的出现及感染控制的需要^[5],临床微生物标本检测量以每年10%~15%的速度递增。越来越多的微生物实验室选择了每周7 d、每天24 h的工作模式来应对增长迅猛的工作量。选用临床微生物自动化设备可减轻工作量,缩短TAT^[6]。一般情况下,微生物实验室工作人员会在每天早晨上班时间处理生长的平板和各种生化试管、药敏试验,若平板在中午或周末时间长出可见菌落,须等到隔日上午方能得到审阅并处理,这会导致不必要的时间延迟。若引入自动化设备,可快速报告检验