

- 学报, 2005, 40(4): 294.
- [5] 刘宪华, 张玲. PPAR- γ 及其配体在肾脏组织中生物学作用的研究进展[J]. 重庆医学, 2005, 34(8): 1239.
- [6] 江恒, 陈克力, 何建明, 等. 代谢性核受体在结肠癌中的表达及意义[J]. 重庆医学, 2009, 38(42): 1454.
- [7] Fang C, Yoon S, Tindberg N, et al. Hepatic expression of multiple acute phase proteins and down-regulation of nuclear receptors after acute endotoxin exposure[J]. Biochem Pharmacol, 2004, 67: 1389.
- [8] Kim MS, Sweeney TR, Shigenaga JK, et al. Tumor necrosis factor and interleukin 1 decrease RXR α , PPAR α , PPAR γ , LXR α , and the coactivators SRC-1, PGC-1 α , and PGC-1 β in liver cells[J]. Metabolism, 2007, 56: 267.
- [9] Lu B, Moser AH, Shigenaga JK, et al. Type II nuclear hormone receptors, coactivator, and target gene repression in adipose tissue in the acute-phase response[J]. J Lipid Res, 2006, 47: 2179.
- [10] Wang Y, Moser AH, Shigenaga JK, et al. Down regulation of liver X receptor- α in mouse kidney and HK-2 proximal tubular cells by LPS and cytokines[J]. J Lipid Res, 2005, 46: 2377.
- [11] Marcil V, Delvin E, Sane AT, et al. Oxidative stress influences cholesterol efflux in THP-1 macrophages: role of ATP-binding cassette A1 and nuclear factors[J]. Cardiovasc Res, 2006, 72: 473.
- [12] Birrell MA, De Alba J, Catley MC, et al. Liver X receptor agonists increase airway reactivity in a model of asthma via increasing airway smooth muscle growth[J]. J Immunol, 2008, 181(6): 4265.
- [13] Ogawa S, Lozach J, Benner C, et al. Molecular determinants of crosstalk between nuclear receptors and toll-like receptors[J]. Cell, 2005, 122(5): 707.
- [14] Castrillo A, Joseph SB, Marathe C, et al. Liver X receptor-dependent repression of matrix metalloproteinase-9 expression in macrophages[J]. J Biol Chem, 2003, 278(12): 10443.
- [15] Valledor AF, Hsu LC, Ogawa S, et al. Activation of liver X receptors and retinoid X receptors prevents bacterial-induced macrophage apoptosis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101: 17813.
- [16] Szanto A, Roszser T. Nuclear receptors in macrophages: a link between metabolism and inflammation[J]. FEBS Lett, 2008, 582(1): 106.
- [17] Smoak K, Madenspacher J, Jeyaseelan S, et al. Effects of liver X receptor agonist treatment on pulmonary inflammation and host defense[J]. J Immunol, 2008, 180(5): 3305.
- [18] Delvecchio CJ, Bilan P, Radford K. Liver X receptor stimulates cholesterol efflux and inhibits expression of proinflammatory mediators in human airway smooth muscle cells[J]. Mol Endocrinol, 2007, 21(6): 1324.
- [19] Collins JL, Fivush AM, Watson MA, et al. Identification of a nonsteroidal liver X receptor agonist through parallel array synthesis of tertiary amines[J]. J Med Chem, 2002, 45(10): 1963.
- [20] Myhre AE, Agren J, Dahle MK, et al. Liver X receptor is a key regulator of cytokine release in human monocytes[J]. Shock, 2008, 29(4): 468.
- [21] Smoak K, Madenspacher J, Jeyaseelan S, et al. Effects of liver X receptor agonist treatment on pulmonary inflammation and host defense[J]. J Immunol, 2008, 180(5): 3305.
- [22] Chintalacharuvu SR, Sandusky GE, Burris TP, et al. Liver X receptor is a therapeutic target in collagen-induced arthritis[J]. Arthritis Rheum, 2007, 56(4): 1365.
- [23] Joseph SB, Castrillo A, Laffitte BA, et al. Reciprocal regulation of inflammation and lipid metabolism by liver X receptors[J]. Nat Med, 2003, 9(2): 213.
- [24] Ogawa D, Stone JF, Takata Y, et al. Liver X receptor agonists inhibit cytokine-induced osteopontin expression in macrophages through interference with activator protein-1 signaling pathways[J]. Circ Res, 2005, 96: 59.
- [25] Birrell MA, Catley MC, Hardaker E, et al. Novel role for the liver X nuclear receptor in the suppression of lung inflammatory responses[J]. J Biol Chem, 2007, 282: 31882.

(收稿日期: 2009-11-02 修回日期: 2010-04-01)

• 综 述 •

基质金属蛋白酶与肿瘤关系研究进展

孙根林 综述, 鲍扬漪 审校

(合肥市第一人民医院肿瘤科 230061)

关键词: 基质金属蛋白酶; 增殖; 凋亡; 侵袭; 血管形成

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2010.21.060

中图分类号: R730.231; Q555.9

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)21-2982-04

基质金属蛋白酶(MMPs)在肿瘤细胞凋亡、转移、血管生成等方面起重要作用, 并成为药物研究的靶点。现将相关研究进展综述如下。

1 分类及结构

按作用底物不同主要分为五大类: 间质胶原酶(MMP-1、8、13)、明胶酶又称IV型胶原酶(MMP-2、9)、基质溶酶(MMP-

3、10、11)、膜型基质金属蛋白酶(包括 MMP-14、15、16、17)和其他类(MMP-7、12、18、19、20、21、22)。大多数 MMPs 有一个 N 端信号序列(前端域),随后为反应域和 C 端血红素结合蛋白结构域。N 端的肽包含被包含半胱氨酸。所有的 MMPs 都是酶,被激活时,通过其他的 MMPs 或者其他的酶作用域周围的肽链将被移走,域被暴露。反应域含有锌指样结构 HEXX-HXXGXXH,由 3 个组氨酸残基结合 1 个锌离子和被包绕的蛋氨酸残基,形成 1 个蛋氨酸环,这样有利于保护反应性的锌离子,MMP-2、MMP-9 包含数个纤维连接蛋白 II 结构域插入到反应结构域中,它(们)可能是增强反应结构域与底物的结合能力。除 MMP-7 和 MMP-26 外,血红素结合蛋白结构域出现在所有 MMPs 中,作为调节的亚单位,一个高可变铰链区可使它和反应结构域分离,这个铰链区通过直接和底物结合或通过影响血红蛋白和反应结构域构象来稳定 MMPs 空间结构。通过加入或除去结构域或功能结构域,可分为不同亚组,C 端肽链的末端结合一个大约含 25 个氨基酸疏水肽,并插入弗林蛋白丝氨酸蛋白激酶的位置,这就是 MT-MMPs 的结构;但 MMP-14、15、16、24 有跨膜和胞浆结构域,MMP-17 和-25 的 C 端肽链延长部分充当糖基化磷脂酰肌醇锚定信号。在 MMPs 三维结构中,虽然结构域一级结构基本相同,但反应域多肽链高度折叠,反应域包含 5 个 β 折叠、3 个 α 螺旋和连接的环,2 个锌离子和 3 个钙离子从而形成稳定结构,底物的结合位置包括疏水的可变的在深部的“S1 口袋”,它有利于稳定底物的构象。由 3 个 α 螺旋和连接的环组成的“半胱氨酸开关”位于底物结合的口袋中,半胱氨酸间形成巯基与锌离子相互作用;如 proMMP-1 的前体结构域与血红素蛋白结合域相互作用导致“关闭”,而激活的 MMP-1 却导致“开放”,这就是明胶和明胶酶相互作用机制^[1]。

2 在细胞增殖中的作用

MMPs 能酶解各种不同的底物,包括其他 MMPs、细胞因子、生长因子和受体及其他非基质蛋白,或者招募促进生长的因子。MMPs 通过其酶解作用使得肝素结合表皮生长因子(HB-EGF)从细胞膜上脱落,促进胰岛素样生长因子(IGFs)从胰岛素样生长因子及其结合蛋白(IGFs-IGFBPs)形成复合物中释放;还可以激活 TGF- β ,从而促进细胞增殖。Yoshida 等^[2]发现顺铂通过诱导生成 HB-EGF 裂解体而激活 EGFR;抗 EGFR 单抗阻碍 EGFR 系统,促进肿瘤生长抑制。上述结果说明,MMPs 具有酶解 HB-EGF 形成生物活性裂解体的功能,并通过激活 EGFR 通路而促进细胞生长。Miyamoto 等^[3]在结肠癌细胞 TH29 的研究中发现 MMP-7 降解 IGFBP-2,从而有利于 IGF- II 在组织环境中发挥促进生长的生物学活性,提示 MMPs 一方面通过对 IGF- II /IGFBP-2 复合物作用,另一方面通过对 ECM 的降解,共同促进活性 IGF- II 形成。Joji 和 McCarthy^[4]在 proMMP-1cDNA 对黑色素瘤细胞生长的影响的研究中发现,MMP-1 直接酶解 TGF- β_1 产生有活性 TGF- β_1 (25 kD),并认为 MMP-1 的催化产生 TGF- β ,而刺激恶性黑色素瘤的生长,提示 MMPs 至少在恶性肿瘤演变的中、晚期通过 TGF- β 促进肿瘤细胞生长。HARP 和 VEGF 形成复合物两者均无活性,通过 MMP-2 的水解形成具有活性的分子,其中 HARP-N 末端诱导细胞增殖^[5]。Wang 等^[6]在肺上皮细胞中癌基因 K-Ras 调节细胞增殖和黏附的研究显示,K-Ras 转染后细胞核浆比例增大,MMP-9 对 E-cad 的酶解作用,稳定 β 连环蛋白,激活 WNT 信号通路,作者认为 COX-2 与 MMP-9 相互作用诱导 β -连环蛋白信号,刺激增殖并改变黏附连接点,即

COX-2 抑制 β -连环蛋白磷酸化稳定该蛋白,而 MMP-9 使 β -连环蛋白从细胞膜上释放,通过 WNT 信号途径促进细胞增殖。

3 抑制细胞凋亡作用

MMPs 通过一些信号途径抑制肿瘤细胞凋亡。Meyer 等^[7]用 MMPs 抑制剂和 MMPsiRNA 导入 SW480 结肠腺癌细胞研究显示,MMPs 保护细胞免于 PKC/p53 诱导的凋亡,并且确定 MMP-9 和 MMP-10 有这样保护作用。说明 MMPs 在肿瘤细胞中具有抗 PKC/p53 诱导凋亡作用。Chetty 等^[8]在 MMP-2-siRNA 诱导 A549 肺腺癌细胞凋亡研究中发现,MMP-2-siRNA 转染改变 Bax/Bcl-2 表达和诱导 caspase-3、8、9 以及 PARP-1 分裂体形成;诱导 Bid 分裂体形成和细胞色素 c 的释放;诱导 Fas/FasL 的活性和招募 FADD(Fas 相关死亡域)形成多聚体促进细胞凋亡;增加 MMPs 组织抑制因子-3 (TIMP-3)表达。通过 TUNEL 染色分析提示 MMP-2 通过上述途径发挥抗凋亡作用。有研究显示,基质溶解因子(MMP-7)是 MMPs 家族成员之一,MMP-7 可促进凋亡抵抗,降低了凋亡的效能^[9]。Kippenberger 等^[10]用 E-cad 基因转染黑色素瘤细胞发现,E-cad 过表达导致线粒体释放细胞色素 C 的增加和 caspase-3、caspase-8 活性提升而促进凋亡,但缺乏细胞外 E-cad 作用结构域的细胞并没有出现凋亡改变。从细胞、裸鼠模型、人的组织的研究中发现多数 MMPs 有促进 VEGF 释放的作用,如 MTI-MMP 上调 VEGF 的表达,VEGF-A 的上调是与 MTI-MMP 增加 VEGF-A 的转录活性有关而不是增加 mRNA 的稳定性,能被 MMP 抑制剂 TIMP2 阻断,其信号传导机制可能为通过 MTI-MMP 信号通路,涉及到 Src 酪氨酸激酶^[11],MMP-2 通过水解 HARP-VEGF 和 CTGF-VEGF 复合物而释放活性 VEGF^[5]。VEGF-siRNA 转染乳腺癌细胞 MCF-7 实验中表明,VEGF-siRNA 通过降低乳腺癌细胞 Bcl-2/Bax 表达比例,上调 caspase-3 蛋白表达,促进细胞色素 C 等从线粒体释放等诱导凋亡,并且在乳鼠模型中肿瘤生长降低^[12],提示 VEGF 有抗凋亡作用。

4 促进肿瘤细胞侵袭、转移作用

肿瘤细胞转移过程包括肿瘤细胞的分离、侵袭、运动、血管侵袭、血循环中的存活、黏附于上皮细胞及溢出血管外^[13]。在细胞间和细胞与基质间的黏接中钙调蛋白和桥黏蛋白起重要作用,桥黏蛋白在包膜和胞质间流动的改变可能导致肿瘤细胞间黏附的丧失,在 MMP 抑制的 SCC68 上皮细胞中,MMPs 抑制导致黏接的桥黏蛋白-2 的聚集,减少内化,并且桥黏蛋白比钙黏蛋白更敏感,而钙黏蛋白增加黏附强度;MMPs 能使桥黏蛋白-2 从细胞表面脱落^[14]。又有实验显示 MMP-7 通过调节非基底膜蛋白而促进肿瘤细胞侵袭,E-cad 蛋白通过与连环蛋白细胞质尾相互作用调节细胞黏附,MMP-7、MMP-3 使 E-cad 蛋白外功能区脱落释放可溶性 E-cad^[9],通过旁分泌可溶性 E-cad 抑制 E-cad 的功能而刺激肿瘤细胞侵袭和转移^[15]。除了降解作用外还调节与细胞生理学相关生物活性分子的活性,这些分子包括细胞因子及其受体和黏附分子,如:细胞表面锚定 MMP-9 激活转化因子 β (TGF- β) 刺激 MMPs 表达并促进肿瘤侵袭和血管形成^[9]。组织 MMPs 抑制物(TIMP)和 MMPs 形成复合物导致 MMPs 失活而影响肿瘤的侵袭和扩散,TIMP-3 抑制 MMP-1、MMP-2、MMP-3,TIMP-3 的表达降低与肿瘤患者存活的降低有关,同时还认为食管腺癌发展过程中分别在早期和晚期侵袭转移导致患者死亡中起重要作用,TIMP-3 分子恢复重建是基因治疗的一个研究方向^[16]。值得一提的是 ChiIp 等在肝癌细胞跨膜基金蛋白-1

(MTI-MMP)基因转染研究中发现,过多表达 MTI-MMP 增加致瘤性和转移能力,增强肿瘤的扩散和生长,延迟失巢现象(即黏附的细胞失去和基质黏附后,很短时间内将凋亡)。推测认为:MTI-MMP 刺激肝癌细胞的致瘤性,并通过增加肿瘤生长和侵袭能力实现肝内转移,更重要的是 MTI-MMP 促进存活,保护肝癌细胞免于凋亡在肿瘤细胞分离后 24 h,MTI-MMP 的作用不限于基质的降解,而是在分离后环境(如进入血循环)中改变了包括存活优势在内的细胞行为,有助于肿瘤转移的实现^[17]。陈莉萍和杨鹰^[18]通过对子宫内癌金属蛋白酶-2 表达检测及与肿瘤发生、发展的关系研究推测 MMP-2 主要通过以下机制促进肿瘤浸润及转移:(1)降解癌细胞周围细胞外基质和基底膜主要成分 VI、VII、X 型胶原及明胶,为癌细胞增殖制造空间,使癌细胞能进出周围组织,促使肿瘤发生浸润和转移;(2)在降解 ECM 过程中释放促血管生成因子如 VEGF、b-FGF、TGF- β 、TGF2 等,促进新生血管形成,产生肿瘤转移的血管通路。

5 促进血管生成

Du 等^[9]在 MMP-2 基因剔除鼠星状胶质母细胞移植瘤研究中发现:MMP-2 通过调节血管侧支影响血管密度;MMP-2 影响 VEGFR-2 的表达水平;MMP-2 调节周细胞的活性和活性分子招募;MMP-2 影响肿瘤血管的功能。由于 MMP-2 缺乏削弱血管成熟,认为剔除 MMP-2 基因的星状胶质母细胞移植瘤生长较慢,虽然肿瘤细胞仍然沿血管浸润,但乳鼠存活时间显著延长,MMP-2 可作为药物研究靶点。Chantrain 等^[20]通过分析已有的一些研究认为 MMPs 可能从以下 6 个方面促进周细胞在肿瘤血管形成中的招募作用:(1)通过对 ECM 的降解直接刺激周细胞的侵袭;(2)通过 ECM 改变刺激周细胞的增殖和免于凋亡;(3)通过释放 ECM 上的生长因子激活周细胞;(4)和新生血管表面受体相互作用;(5)促进新生血管信号传导的整合;(6)招募源于骨髓的干细胞。Suhr 等^[21]认为 MMPs 促进肿瘤血管生成至少表现在 3 个方面:(1)MMPs 通过降解 ECM,刺激干细胞和内皮细胞迁移而侵袭血管区域;(2)MMPs 能释放血管生成因子,如 FGF-2、TGF- β 和 VEGF;(3)白明胶酶通过作用于 ECM 上的分子产生抗血管生成片段,如内皮抑素和肿瘤抑素。在体内和体外上调 TIMP-2 能抗血管生成,重组 TIMP-2 蛋白或 TIMP-2 表达结构转染都能抑制表皮细胞侵袭和肿瘤血管形成。另外,MMPs 与其他活性分子协同促进肿瘤血管生成,如吕钢等^[22]通过贲门癌研究发现 MMP-7 和 E-cadherin 表达之间呈现显著的负相关,MMP-7 与 E-cadherin 的相互作用,MMP-7 降解细胞外基质是 VEGF 的促血管内皮细胞生成的前提,MMP-7 和 VEGF 都具有降解血管基底膜作用,MMP-7 与 VEGF 之间可能存在相互促进、相互协同的促进血管生成的机制。

总之,在肿瘤演变过程中,MMPs 所起的作用是复杂的,其主要作用是促进肿瘤细胞增殖、抑制凋亡、刺激侵袭转移和肿瘤血管形成;但也有与主要作用不一致的方面,如 MMP-2 的水解 HARP-VEGF 复合物形成具有活性的分子,HARP-N 末端诱导细胞增殖,而 HARP-C 末端诱导抑制细胞增殖和血管形成^[5];MMPs 在对 TNF- α 的作用中,有研究认为促进肿瘤细胞凋亡,但又有研究认为促进 TNF- α 表达,可促进 MMPs 表达进而促进细胞增殖和转移等等,需要进一步研究和探索。

参考文献:

[1] Ganea E,Trifan M,Laslo AC,et al. Matrix metalloprotei-

nases: useful and deleterious [J]. *Biochem Soc Trans*, 2007,35(4):689.

- [2] Yoshida T,Okamoto I,Iwasa I,et al. The anti-EGFR monoclonal antibody blocks cisplatin-induced activation of EGFR signaling mediated by HB-EGF [J]. *FEBS Lett*, 2008, 528: 4125.
- [3] Miyamoto S,Nakamura M,Yano K,et al. Matrix metalloproteinase-7 triggers the matricrine action of insulin-like growth factor-II via proteinase activity on insulin-like growth factor binding protein 2 in the extracellular matrix [J]. *Cancer Sci*, 2007,98(5):685.
- [4] Joji J,McCarthy JB. Expression of collagenase-1 (MMP-1) promotes melanoma growth through the generation of active transforming growth factor-B [J]. *Melanoma Res*, 2007,17:205.
- [5] Dean RA,Butler GS,Yamina HK,et al. Identification of candidate angiogenic inhibitors processed by matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) in cell-based proteomic screens: disruption of vascular endothelial growth factor (VEGF)/heparin affinity regulatory peptide (pleiotrophin) and VEGF/connective tissue growth factor angiogenic inhibitory complexes by MMP-2 proteolysis [J]. *Mol Cell Biol*, 2007,27(24):8454.
- [6] Wang XQ,Li H,Putten VV,et al. Oncogenic K-Ras regulates proliferation and cell junctions in lung epithelial cells through induction of cyclooxygenase-2 and activation of metalloproteinase-9 [J]. *Mol Biol Cell*, 2009,20:791.
- [7] Meyer E,Vollmer JV,Bovey R,et al. Matrix metalloproteinases 9 and 10 inhibit protein kinase C-potentiated, p53-mediated apoptosis [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(10): 4261.
- [8] Chetty C,Bhoopathi P,Lakka SS,et al. MMP-2 siRNA induced Fas/CD95-mediated extrinsic II apoptotic pathway in the A549 lung adenocarcinoma cell line [J]. *Oncogene*, 2007,26:7675.
- [9] Masanori I,Hiroyuki Y,Yasusni A,et al. Role of matrix metalloproteinase-7 (matrilysin) in human cancer invasion, apoptosis, growth and angiogenesis [J]. *Exp Biol Med*, 2006,231:20.
- [10] Kippenberger S,Loitschb S,Thaci D,et al. Restoration of E-cadherin sensitizes human melanoma cells for apoptosis [J]. *Melanoma Res*, 2006,16(5):445.
- [11] Sounni NE,Roghi C,Chabottaux V,et al. Upregulation of VEGF-A by active MT1-MMP through activation of Src-tyrosine kinases [J]. *J Biol Chem*, 2004,279:13564.
- [12] Ge YL,Zhang X,Zhang JY,et al. The mechanisms on apoptosis by inhibiting VEGF expression in human breast cancer cells [J]. *Int Immunopharmacol*, 2009,9:389.
- [13] Yasui W,Oue N,Aung PP,et al. Molecular-pathological prognostic factors of gastric cancer: a review [J]. *Gastric Cancer*, 2005,8:86.
- [14] Klessner JL,Desai BV,Amargo EV,et al. EGFR and ADAMs cooperate to regulate shedding and endocytic trafficking of the desmosomal cadherin desmoglein-2 [J]. *Mol*

Biol Cell, 2009, 20: 328.

- [15] Masanor I, Hiroyuki Y, Yasoshi A, et al. Role of matrix metalloproteinase-7 (matrilysin) in human cancer invasion, apoptosis, growth, and angiogenesis [J]. *Exp Biol Med*, 2006, 231: 20.
- [16] Darnton SJ, Hardie LJ, Muc RS, et al. Tissue inhibitor of metalloproteinase-3 (TIMP-3) gene is methylated in the development of esophageal adenocarcinoma; loss of expression correlates with poor prognosis [J]. *Int J Cancer*, 2005, 115: 351.
- [17] Ip YC, Cheung ST, Leung KL, et al. Mechanism of metastasis by membrane type 1-matrix metalloproteinase in hepatocellular carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(40): 6269.
- [18] 陈莉萍, 杨鹰. 子宫内膜癌基质金属蛋白酶 22 表达检测及其与肿瘤发生发展的关系 [J]. *重庆医学*, 2008, 37

(22): 2572.

- [19] Du R, Petritsch C, Lu K, et al. Matrix metalloproteinase-2 regulates vascular patterning and growth affecting tumor cell survival and invasion in GBM [J]. *Neuro Oncol*, 2008, 10(3): 254.
- [20] Chantrain CF, Henriot P, Jodele S, et al. Mechanisms of pericyte recruitment in tumour angiogenesis: A new role for metalloproteinases [J]. *Euro J Cancer*, 2006, 42: 310.
- [21] Suhr F, Brixius K, Bloch W. Angiogenic and vascular modulation by extracellular matrix cleavage products [J]. *Curr Pharma Des*, 2009, 15(4): 389.
- [22] 吕钢, 徐惠绵, 王亚晖, 等. MMP-7、E-cadherin 和 VEGF 与贲门癌生物学行为的关系 [J]. *重庆医学*, 2008, 37(14): 1559.

(收稿日期: 2009-11-10 修回日期: 2010-04-08)

· 综 述 ·

血清神经元特异性烯醇化酶水平的研究进展

吴 春 综述, 魏光辉 审校

(重庆医科大学附属儿童医院外科 400014)

关键词: 神经元特异性烯醇化酶; 脑外伤; 脑血管病; 肿瘤; 癫痫

doi: 10. 3969/j. issn. 1671-8348. 2010. 21. 061

中图分类号: Q55; R651. 15

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)21-2985-03

神经元特异性烯醇化酶(neuron specific enolase, NSE)是细胞能量代谢活动中参与糖酵解过程的关键酶,以二聚体形式存在于胞质中的特异性蛋白,其存在于神经元细胞和神经内分泌细胞内,在脑脊液和血液中的含量甚微。脑损伤时神经细胞受损,血脑屏障破坏,该酶进入脑脊液和血循环中^[1],其血清浓度与脑损伤程度及疾病的预后密切相关。近年来,作为神经系统损伤的敏感性、特异性标志,国内外学者对 NSE 蛋白在血清中的动态变化与疾病的诊断、预后方面的临床意义进行了大量的研究。本文就 NSE 蛋白的生物学特性、功能及其与脑损伤的关系等综述如下。

1 NSE 蛋白的结构和分布

烯醇化酶普遍存在于生物体内的糖酵解代谢中,它催化 α -磷酸甘油酸转化为磷酸烯醇式丙酮酸。烯醇化酶同工酶均为胞质二聚体酶,由免疫性质不同的 α 、 β 、 γ 3 种亚基组成。现已发现 5 种烯醇化酶同工酶 $\alpha\alpha$ 、 $\beta\beta$ 、 $\gamma\gamma$ 、 $\alpha\beta$ 、 $\alpha\gamma$ 。免疫组化研究表明:烯醇化酶同工酶均存在于细胞浆中, $\alpha\alpha$ 型存在于神经胶质细胞内,其免疫性质与肝内烯醇化酶相同,故称为非神经元特异性烯醇化酶(non neuronal specific enolase, NNE)^[2]; β 亚基同工酶 98% 的活性在骨骼肌, $\gamma\gamma$ 型特异性地存在于神经元和神经内分泌细胞中,故命名为 NSE。脑组织内有 $\alpha\alpha$ 、 $\gamma\gamma$ 、 $\alpha\gamma$ 3 种同工酶存在,其中 NSE 占脑全部可溶性蛋白的 1.5%,比例很高。NSE 含量由高到低依次为脑、脊髓、周围神经节。周围神经 NSE 的含量远远低于脑内,两者相差 10~100 倍。在神经内分泌细胞如松果体、垂体、甲状腺等细胞及血液成分血小板、红细胞内也有一定量的 γ 亚基存在 ($\alpha\gamma$ 型),虽然红细胞内含量比脑内低 30~50 倍^[3],但测定 NSE 也应避免溶血^[4]。

2 NSE 蛋白检测方法及其影响因素

NSE 的检测目前主要有放免分析法(RIA)或免疫放射测定法(IRMA)、荧光免疫测定法(FIA)和酶联免疫吸附法(ELISA),用于检测脑脊液、血液、尿、羊水等中 NSE 蛋白的含量。ELISA 目前最常用,它采用原核系统表达的 NSE 作为标准品并制备抗 NSE 单克隆抗体,建立的双抗体夹心法、ELISA 法较 RIA 和 FIA 具有灵敏度高、无污染、操作简便、报告结果快速等诸多优点,在临床上具有极大的应用价值。我国已有国产化 ELISA 试剂,有较好的稳定性和灵敏度。

在实际检验中,检验结果的准确性除受其方法灵敏度、精密度的影响外。来自标本自身的影响也是一个不可忽视的因素。邵美娟等^[5]认为冷冻与不冷冻两种条件下,血清中 NSE 水平无显著差异,说明冷冻对此酶活性无影响。血液标本久置未及分离,导致血小板及红细胞内的 $\alpha\gamma$ 型烯醇化酶进入血清,使血清中 NSE 水平升高,容易造成误诊。而在实际工作中,尤其是病房血液标本往往未能及时送检而导致血清 NSE 结果偏高。因此,在采集血后应尽早送检,及时分离血清,尽量控制在 1 h 内。对于当天无法检验的标本,可将血清标本冷冻保存,血清从冰箱中取出后需全部冻融后充分混匀再行测定^[6]。

3 NSE 在临床运用研究中的进展

3.1 NSE 与脑外伤 越来越多的研究表明,NSE 可作为一种较为敏感的特异性反映神经元损伤的生化指标。脑外伤时,神经元损伤或坏死、膜的完整性遭到破坏,导致 NSE 不能与胞膜结合,通过受损的血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)漏至血浆中。脑外伤发生后,血清中 NSE 的浓度很快上升,其升高先于临床症状或体征的出现,并且释放量与神经细胞死亡量呈显