

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<sup>[1]</sup>,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  $\alpha$ -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  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  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)<sup>[2]</sup>;  $\beta$  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  $\gamma$  亚基存在 ( $\alpha\gamma$  型),虽然红细胞内含量比脑内低 30~50 倍<sup>[3]</sup>,但测定 NSE 也应避免溶血<sup>[4]</sup>。

### 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<sup>[5]</sup>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<sup>[6]</sup>。

### 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

著正相关,因此 NSE 作为对脑损伤早期分型诊断的敏感生化指标已日益引起学者们的关注<sup>[7]</sup>。梁成等<sup>[8]</sup>通过一系列研究得出结果,重型(a)、轻型(b)颅脑损伤患者与对照组(c)的血清 NSE 水平存在显著差异,死亡植物生存率(e)、残疾组(f)和恢复良好组(g)的血清 NSE 水平两两对比差异明显,而血清 NSE >122 ng/mL 组和 NSE <22 ng/mL 组之间死亡生存率、残疾率和恢复良好率有显著差异,其机制是当脑损伤严重时,原发性和继发性脑细胞破坏量也将大幅度增多,导致大量 NSE 可通过受损的 BBB 进入脑血管并随血液到达周围循环<sup>[9]</sup>,其浓度与脑损害程度及疾病预后密切相关。Hemmann 等<sup>[10]</sup>观察 69 例脑外伤患者外伤后第 1、2、3 天血清 NSE 浓度,并分别在 2 周后和 6 个月后进行神经心理学测定,结果显示虽然大多数患者 6 个月后可以独立生活,但 2/3 的患者存在神经心理障碍,有神经心理障碍者外伤后 3 d 内的血清 NSE 浓度显著升高,而且升高的时间显著延长,提示急性期检测血清 NSE 浓度有助于判断脑外伤患者以后发生神经心理障碍的可能性。由此可见颅脑损伤越严重,外周血中 NSE 水平越高,说明检测外周血中 NSE 水平对了解脑损伤程度有十分重要的临床价值。

但也有意见不尽相同者。Fridnksson 等<sup>[11]</sup>在 45 例脑挫伤儿童的研究中认为,血清 NSE 可以作为一个有用的筛查脑挫伤的工具,但仅用血清 NSE 的浓度水平来预见颅内是否有脑挫伤,既无敏感性,也无特异性。

**3.2 脑血管病** 有学者通过观察 58 例卒中患者发病后第 1、4、10 天及出院时血清 NSE 及 S-100 蛋白含量、NIHSS(国立健康研究卒中计分指数及神经精神检查评分)得出了 NSE 浓度与脑梗死体积及 NIHSS 评分显著相关的结论。认为血清 NSE 与 S-100 蛋白对判断卒中后神经及精神行为预后具有重要价值<sup>[12-15]</sup>。Cunningham 等<sup>[16]</sup>在 163 例卒中患者的研究中发现,发病后第 48、96 小时及 4 d 内最大血清 NSE 浓度与脑梗死的体积相关,但与脑出血的体积无相关性;发病后第 48、72 小时脑梗死患者的血清 NSE 水平显著高于脑出血者;脑梗死面积大者,其血清 NSE 浓度的峰值出现较晚。但是,血清 NSE 浓度的高低不能作为区分脑出血和脑梗死的指标。有学者动态检测 29 例蛛网膜下腔出血患者血清 NSE,结果表明病情严重者血清 NSE 显著高于症状轻者;出血量越多,NSE 水平越高;预后佳者整个病程中血清 NSE 浓度处于低水平。在发生迟发性缺血性损害尤其是预后差的患者,血清 NSE 浓度维持高水平可达 3 周<sup>[17]</sup>。Fassbender 等<sup>[18]</sup>动态检测脑梗死 30 例、脑出血 13 例、心源性缺氧 11 例等患者中血浆 NSE,持续动态检测 10 d,结果显示脑梗死、脑出血及心源性缺氧组发病后 72 h 内血浆 NSE 值与临床预后相关:高血浆 NSE 浓度者预后差,大于 115 ng/mL 者均死亡,但低浓度水平的 NSE 意义较小,少数患者血浆 NSE 水平低但预后不佳。在那些发生继发性脑损伤如脑水肿加重的患者,血浆 NSE 再次上升或剧增先于临床症状和其他指标发生变化之前,故监测血浆 NSE 的演变有助于了解脑梗死和脑出血的病情变化,以上的研究得出的结论大致相同。不过有学者在 24 例缺血性卒中患者的研究中发现血清 NSE 在脑缺血后有所升高,但与损害范围及临床预后无显著相关性<sup>[19]</sup>。

**3.3 肿瘤** 支气管癌:NSE 被认为是监测小细胞支气管癌的首选,60%~80%的小细胞支气管癌患者 NSE 与转移部位或者是否为神经系统转移没关系。但与临床分期,即疾病的严重程度有很好的相关性。化疗期间,首轮治疗开始后 24~72 h 内,由于肿瘤细胞的分解,NSE 呈一过性升高,首轮治疗结束

后,NSE 含量迅速降低,对应地,治疗无反应者,血中 NSE 持续升高或不能降到参考范围以下。在缓解期,80%~96%的患者 NSE 含量正常,如 NSE 升高,提示复发。因此,NSE 是小细胞支气管癌疗效与病程的有效标志物,并能提供有价值的预后信息。

神经母细胞瘤:62%患病的儿童血清 NSE 水平高于 30 ng/mL,病理性 NSE 升高与疾病的临床分期有显著相关性;反之,NSE 升高不明显,则预后好。

精原细胞瘤:有 68%~73%患者血清 NSE 水平明显升高,含量与病程有关系;其他肿瘤:22%的非肺源性恶性疾病患者 NSE 大于 25 ng/mL。脑肿瘤,如神经胶质瘤、脑膜瘤、神经纤维瘤和神经鞘瘤等,偶可伴有 NSE 升高。原发性脑瘤或脑转移性瘤、褐色素细胞瘤,脑脊液中 NSE 升高。有报道 14%的原位性和 46%的转移性肾肿瘤患者中 NSE 升高,并与病变程度相关<sup>[20]</sup>。

**3.4 癫痫** 不同类型癫痫持续状态患者的血清 NSE 浓度较对照组显著增高,升高的幅度与持续状态的时间及预后有关<sup>[21]</sup>。Rabinowicz 等<sup>[21]</sup>报道在录像脑电图检测过程中单次发作后血清 NSE 浓度较对照组显著升高。Correale 等<sup>[22]</sup>检测 11 例癫痫持续状态患者发作后 24 h 内脑脊液及血清 NSE 浓度,结果发现其中 9 例患者脑脊液 NSE 浓度显著升高,脑脊液的 NSE 浓度较血清高,同时发现脑脊液/血清清蛋白比值(Qalb)在癫痫持续状态组显著上升,Qalb 与脑脊液及血清 NSE 浓度密切相关,从而认为癫痫持续状态使神经元受损,血脑屏障破坏,NSE 从神经元中释放出来并进入血液。

**3.5 其他** Mokuno 等<sup>[23]</sup>对 24 例吉兰-巴雷综合征患者进行脑脊液 NSE 浓度的动态检测,发现 NSE 正常者恢复较快,高 NSE 浓度者恢复较慢且有后遗症。有报道 Creutzfeldt-Jakob 病早期 CSF 中 NSE 显著增高。NSE 在痴呆方面的研究相对较少,意见也不一致。另外,在多发性硬化、Huntington 病、肝性脑病等方面早期有少量的研究。

综上所述,NSE 是一个较为敏感的特异性反映神经元损伤的量化指标,在原发或继发的神经系统疾病患者中检测 CSF 或血清 NSE 浓度均有价值,其检测简便易行。但 NSE 在各类神经系统疾病中缺乏特异性,不能对神经系统病变的病因诊断提供帮助。高 NSE 水平提示神经细胞损伤重,预后差,但低 NSE 水平则不一定提示相反的结果,因为神经损伤的结局不仅与神经损伤的量有关,还与神经细胞的位置或其他因素密切相关。以前的研究认为,在多个反映神经损伤的生化指标中 NSE 是最敏感的。近年来有个别研究认为 S100 蛋白同样敏感甚至更有意义。应该想到,由于每位研究者检测标本的时间密度及检测的方法不同,均可以导致结果的不同,在今后的研究中还需进一步的探讨和改进。同时,还应进一步研究 NSE 与临床相关检查的关系,研究各类神经系统疾病中 NSE 水平的时相变化,进一步为临床服务。

#### 参考文献:

- [1] 王琨,李彦敏. NSE、S-100 蛋白与脑损伤关系的研究[J]. 脑与神经疾病杂志,2009,17(5):396.
- [2] 吴炬,周坚,李仁德,等. 神经元特异性烯醇化酶的快速检测方法研究[J]. 兰州大学学报,2004,40(2):76.
- [3] Berger RP, Dulani T, Adelson PD, et al. Identification of inflicted traumatic brain injury in well-appearing infants using serum and cerebrospinal makers; a possible screen-

- ing tool for inflicted traumatic brain injury[J]. *Pediatrics*, 2006, 117:325.
- [4] Lamers KJ, Vos P, Verbeek MM, et al. Protein S-100B neuron-specific enolase(NSE) myelin basic protein(MBP) and glial fibrillary acidic neuro biochemical markers of brain damage after traumatic brain protein(GFAP) in cerebrospinal(CSF) and blood of neurologic patients[J]. *Brain Res Bull*, 2003, 61:261.
- [5] 邵美娟, 曾义锋, 倪莉, 等. 神经元特异性烯醇化酶测定影响因素的探讨[J]. *江西医学检验*, 2004, 24(6):531.
- [6] 王志华, 唐卫国, 储建中, 等. 血清 NSE 正常参考值的测定和影响因素的探讨及其临床应用[J]. *湖北医科大学学报*, 2000, 21(2):144.
- [7] Rothoerl RD, Woertgen C, Holzschuh M, et al. Rapid evaluation of S-100 serum levels, case report and comparison to previous results[J]. *Brain Inj*, 1999, 13(5):387.
- [8] 梁成, 王纪佐, 李新, 等. 颅内感染患者血清和脑脊液中 MMP-9 及 NSE 含量观察[J]. *山东医药*, 2009, 49(25):53.
- [9] Vos PE, Lamers KJ, Hendriks JC, et al. Glial and neuronal proteins in serum predict outcome after severe traumatic brain injury[J]. *Neurology*, 2004, 62(8):1303.
- [10] Hemmann M, Curio N, Jost S, et al. Release of biochemical markers of damage to neuronal and glial brain tissue is associated with short and long term neuropsychological outcome after traumatic brain injury[J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2001, 70(1):95.
- [11] Fridnksson T, Kini N, Walsh KC, et al. Serum neuron-specific enolase as a predictor of intracranial lesions in children with headtrauma; a pilot study[J]. *Acad Emerg Med*, 2000, 7(7):816.
- [12] Wunderlich MT, Ebert AD, Kratz T, et al. Early neurobehavioral outcome after stroke is related to release of neurobiochemical markers of brain damage[J]. *Stroke*, 1999, 30:1190.
- [13] Quintyn JC, Pereira F, Hellot MF, et al. Concentration of neuron-specific enolase and S-100 protein in the subretinal fluid of rhegmatogenous retinal detachment[J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2005, 243(11):1167.
- [14] Wunderlich MT, Lins H, Skalej M, et al. Neuron-specific enolase and tau protein as neurobiochemical markers of neuronal damage are related to early clinical course and long-term outcome in acute ischemic stroke[J]. *Clin Neurol Neurosurg*, 2006, 108(6):558.
- [15] Woertgen C, Albert R, Köhler M, et al. Ventricular tapping seems to have no influence on S-100B and NSE serum concentrations[J]. *Neurosurg Rev*, 2004, 27(3):178.
- [16] Cunningham RT, Watt M, Winder J, et al. Serum neuron-specific enolase is an indicator of stroke volume[J]. *Eur J Clin Invest*, 1996, 23(4):298.
- [17] Tong YQ, Yang ZH, Yang E, et al. Millimeter-wave exposure promotes the differentiation of bone marrow stromal cells into cells with a neural phenotype[J]. *J Hua zhong Univ Sci Technol*, 2009, 29(4):409.
- [18] Fassbender K, Schmidt R, Schreiner A, et al. Leakage of brain-originated proteins in peripheral blood: temporal profile and diagnostic value in early ischemic stroke[J]. *J Neurol Sci*, 1997, 148(1):101.
- [19] 王丽芬. 神经元特异性烯醇化酶(NSE)的临床意义[J]. *实用医技杂志*, 2007, 14(22):3077.
- [20] Correale J, Serum N. Two specific enolase in the major subtypes of status epilepticus [J]. *Neurology*, 1999, 52(4):746.
- [21] Rabinowicz AL, Correale J, Boutros RB, et al. Neuron-specific enolase is increased after single seizures during inpatient video/EEG monitoring[J]. *Epilepsia*, 1996, 37:122.
- [22] Correale J, Rabinowicz AL, Heck CN, et al. Status epilepticus increases CSF levels of neuron-specific enolase and alters the blood-brain barrier [J]. *Neurology*, 1998, 50:1388.
- [23] Mokuno K, Kiyosawa K, Sugimura K, et al. Prognostic value of cerebrospinal fluid neuron-specific enolase and S-100b protein in Guillain-Barré syndrome[J]. *Acta Neurol Scand*, 1994, 89(1):27.

(收稿日期:2010-01-10 修回日期:2010-04-10)

(上接第 2969 页)

球壁结构完整,视网膜层次清晰。

### 3 讨论

此方法通过液氮低温将 OCT 快速冷冻,从而防止了冰晶形成。但是在液氮里面不要放得太久,否则包埋块会裂开,将影响切片。

切片后固定也很重要,可以用冷丙酮固定或 4% 甲醛固定<sup>[2]</sup>。但做免疫组化和荧光时,建议用冷丙酮固定。对于眼球切片,多数人使用火棉胶包埋,但过程复杂,而且耗时很长。部分实验先固定再切片,为保证眼球壁的完整,需要在眼球上剪一个小孔,因为小鼠眼球太小,操作难度比较大。切片过程中应注意机器里面的温度,如设置不好,可能会卷片或粘在放卷

板上<sup>[3]</sup>。制作眼球切片的最佳温度为 20~23 ℃。

### 参考文献:

- [1] 张轩珍. 沉淀酸化伊红——Y 乙醇液在 HE 染色中的应用探讨[J]. *重庆医学*, 2003, 32(1):76.
- [2] 粟娜, 黄虎, 周木秀. 制作冷冻切片的质量控制[J]. *重庆医学*, 2007, 36(18):1908.
- [3] 章克萍. 不同组织冷冻切片的制作方法[J]. *江西医学院学报*, 2006, 46(4):13.

(收稿日期:2009-12-22 修回日期:2010-04-01)