

对各年龄组的人群均能产生保护作用,并诱发免疫记忆,应用高保守的蛋白质疫苗接种,可以产生非血清型依赖的保护作用。国内外研究人员也在积极地研制肺炎链球菌基因蛋白疫苗,提高疫苗的免疫原性。马千里<sup>[6]</sup>通过动物实验证实了肺炎链球菌毒力蛋白 PsaA、PspA 及 Ply 在经自然途径的肺炎链球菌感染作为具有良好免疫原性的肺炎链球菌菌体成分,可作为新一代肺炎链球菌疫苗的理想候选抗原。有研究发现 Ply、ClpP 和 Lpl 都可有效保护肺炎链球菌的感染这 3 种蛋白联合免疫对多种血清型的肺炎链球菌感染都有保护效应,从而为肺炎链球菌联合多肽疫苗的研制提供的新思路<sup>[7]</sup>。

**1.2.2 核酸疫苗** 核酸疫苗又名基因疫苗或 DNA 疫苗,是一种或多种抗原编码基因克隆到真核表达载体上,将构建的重组质粒直接注入到体内而激活机体免疫系统,因此也有人称为 DNA 免疫。1995 年,世界卫生组织在日内瓦召开国际会议,将其统一命名为核酸疫苗。它所合成的抗原蛋白类似于亚单位疫苗,区别只在于核酸疫苗的抗原蛋白是在免疫对象体内产生的。随着肺炎链球菌蛋白疫苗的研究开发,相应的 DNA 疫苗也开始受到学者的关注。DNA 疫苗免疫应答持久,免疫效果可靠,安全性好,适于大批量生产;分子很稳定,可制成 DNA 疫苗冻干苗,便于运输和保存;使用 DNA 疫苗不用加佐剂,既降低成本又方便使用<sup>[6]</sup>。近几年国外已针对肺炎链球菌相关毒力蛋白的 DNA 疫苗开展了试验性研究,虽然 DNA 疫苗亦存在免疫原性差,抗原呈递效率低下,所激发的体液免疫特异性抗体效价不如蛋白疫苗等不足,但是针对肺炎链球菌毒力株的攻击经实验证实其免疫保护效能与蛋白疫苗相当。

## 2 肺炎链球菌间接 ELISA 方法研究进展

**2.1 肺炎链球菌间接 ELISA 抗原研究进展** 肺炎链球菌有 3 种抗原,荚膜多糖抗原及菌体抗原(包括 C 多糖和 M 蛋白两种)<sup>[8]</sup>。此外肺炎链球菌可产生自溶素、肺炎球菌溶血素、神经氨酸酶,以及细胞表面蛋白 A、表面黏附蛋白 A、胆碱结合蛋白等,在感染过程中均有一定的致病作用。研究表明,用肺炎链球菌蛋白作 ELISA 抗原可以获得满意的结果。

肺炎链球菌表面蛋白 A 属于 ABC 型转运蛋白复合物<sup>[9]</sup>,是肺炎链球菌重要的毒力因子,在抗肺炎链球菌侵入性感染比抗黏膜性疾病作用更强<sup>[10]</sup>;溶血素是一种含有巯基的毒素,具有直接溶解细胞和活化补体的功能,在肺炎链球菌引起炎症反应时起着重要的作用;用从肺炎链球菌表面提取的胆碱结合蛋白混合物免疫小鼠,发现其免疫血清能够被动保护小鼠免于发生脓血症<sup>[11]</sup>;肺炎链球菌表面黏附素 A 在肺炎链球菌黏附、自溶以及毒力方面都起作用;热休克蛋白对于肺炎链球菌在宿主内定植和生存是必需的,用热休克蛋白免疫小鼠能够产生保护作用,并能抵抗致死量肺炎链球菌的攻击<sup>[10]</sup>。

**2.2 肺炎链球菌 ELISA 检测方法研究进展** ELISA 的基础是抗原或抗体的固相化及抗原或抗体的酶标记<sup>[12]</sup>。在测定时,受检标本与固相载体表面的抗原或抗体起反应。用洗涤的

方法使固相载体上形成的抗原抗体复合物与液体中的其他物质分开。再加入酶标记的抗原或抗体,也通过反应而结合在固相载体上。此时固相上的酶量与标本中受检物质的量呈一定的比例。加入酶反应的底物后,底物被酶催化成为有色产物,产物的量与标本中受检物质的量直接相关,故可根据呈色的深浅进行定性或定量分析。由于酶的催化率很高,故可极大地放大反应效果,从而使测定方法达到很高的敏感度。现在用于检测肺炎链球菌免疫效果的方法很多,ELISA 检测是现有检测体液免疫方法中灵敏度高、快速、特异、操作简便的一种诊断方法<sup>[13-14]</sup>。

## 参考文献

- [1] 罗金柱,周义正,邱晓燕. 161 株肺炎链球菌的分布及耐药性分析[J]. 检验医学与临床,2011,8(20):2515-2516.
- [2] 李迟佳,王亚亭. 侵袭性肺炎链球菌疾病的研究进展实用[J]. 儿科临床杂志,2010,25(10):776-778.
- [3] 蒲江. 肺炎链球菌及其疫苗研究[J]. 临床肺科杂志,2010,15(3):381-382.
- [4] 李娜. 肺炎链球菌疫苗免疫效应及研究进展[J]. 儿科药理学杂志,2009,15(1):49-52.
- [5] 王雨辰,董寿堂. 基因工程疫苗的研究进展[J]. 科技创新导报,2011,10:3-4.
- [6] 马千里,张巧,姚伟,等. 肺炎链球菌毒力蛋白 DNA 疫苗优势抗原组合筛选及鉴定[J]. 第三军医大学学报,2009,31(10):922-925.
- [7] 张巧,林科雄,马千里,等. 肺炎链球菌溶菌酶作为肺炎链球菌多价核酸疫苗候选抗原的保护效能评价[J]. 重庆医科大学学报,2010,35(5):711-715.
- [8] 吴元元. 肺炎链球菌 C 多糖的研究现状[J]. 微生物学免疫学进展,2011,39(1):66-70.
- [9] 陈炯,刘恩梅. 肺炎链球菌疫苗研究进展[J]. 儿科药理学杂志,2007,13(4):68-70.
- [10] 唐玉龙. 肺炎球菌表面黏附素 A 和表面膜蛋白 A 的研究进展[J]. 中国生物制品学杂志,2011,24(11):1368-1372.
- [11] 章德广,王正敏,徐江红. 肺炎链球菌表面黏附素 A 的原核表达和抗原性分析[J]. 中国耳鼻咽喉科杂志,2009,9(1):20-22.
- [12] 张巧. 肺炎链球菌毒力蛋白基因工程疫苗的实验研究[D]. 重庆:第三军医大学,2010.
- [13] 刘旸,葛长荣. 酶联免疫吸附法在检测中的应用[J]. 农产品加工,2007,6(1):27-28.
- [14] 何斌. 肺炎链球菌性肺炎诊断方法研究进展[J]. 微生物学免疫学进展,2005,33(4):69-71.

(收稿日期:2012-04-13)

# 视黄醇结合蛋白 4 与相关疾病的研究进展

连 莲 综述,刘 丽 审校(内蒙古自治区乌海市人民医院检验科 016000)

**【关键词】** 视黄醇结合蛋白 4; 脂肪细胞因子; 研究进展

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.23.043 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)23-2990-03

视黄醇结合蛋白 4(RBP4)属于视黄醇结合蛋白(RBP)家族中的分泌型 RBP,主要由肝细胞和脂肪细胞分泌,在协助视

黄醇发挥生理功能中起着不可替代的作用。同时,RBP4 作为一种新型的脂肪细胞因子除了参与胰岛素抵抗及糖尿病的发

生发展外,还与许多疾病有关。许多研究还发现其在肾脏疾病、肥胖、代谢综合征、冠心病及肝功能损伤中均发挥着重要作用。因此,RBP4 自 2005 年被美国哈佛大学医学院发现以来,备受医学界关注,并有望成为相关疾病的发病机制及治疗靶点提供新的线索。现就 RBP4 的相关研究报道做一综述。

### 1 RBP4 与代谢综合征的研究

代谢综合征是一组复杂的代谢紊乱症候群,是导致心脑血管疾病及糖尿病的危险因素。而最新研究显示 RBP4 作为一种新的脂肪因子,受小鼠脂肪组织葡萄糖转运蛋白 4 表达的调节,参与了肥胖与胰岛素抵抗后发生机制<sup>[1]</sup>。

**1.1 RBP4 与 2 型糖尿病** 2 型糖尿病(T2DM)是以胰岛素抵抗和胰岛素分泌缺陷为发病基础的慢性代谢性疾病,而糖尿病的并发症更是严重影响着人们的身体健康。近年发现,RBP4 是一种存在于血液循环中的脂肪源性因子,不仅参与了 T2DM 和葡萄糖耐量异常期的胰岛素抵抗和胰岛素分泌不足,而且促进了糖尿病微血管病变的发生发展。Yang 等<sup>[2]</sup>研究发现 RBP4 抑制肌肉组织磷脂酰肌醇 3 激酶的活性,抑制胰岛素受体后底物 1 的磷酸化,使其摄取葡萄糖减少;同时,他们还发现,RBP4 诱导肝细胞表达糖异生的酶如磷酸烯醇丙酮酸羧激酶(PEPCK),增加肝糖输出,促进胰岛素抵抗的发生,参与糖尿病的发生发展。在 Graham 等<sup>[3]</sup>研究中就发现血清 RBP4 水平与胰岛素抵抗就存在正相关性。另外,国外 Graig 的研究证实 RBP4 基因的变异位点与胰岛素分泌及胰岛素敏感性有关,可能参与胰岛素抵抗;国内也有研究表明 RBP4 基因位点 +5 388c>T 及 +82 017>A 与血清 RBP4 浓度及 T2DM 中间形状相关<sup>[4]</sup>。由此可见,RBP4 基因多态性与胰岛素抵抗和 T2DM 有关。

**1.2 RBP4 与肥胖研究** 肥胖(尤其是腹内肥胖)是代谢综合征的重要因素之一。吴海娅等<sup>[5]</sup>研究发现,血清 RBP4 不仅与胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)呈显著正相关,而且与代表中心性肥胖的指标腰围和腰臀比的相关性更为显著。然而 Janke 等<sup>[6]</sup>的研究表明血清 RBP4 水平在正常体质量组、超重组及肥胖组之间差异并无统计学意义。因此 RBP4 与肥胖的关系还需进一步研究。

**1.3 RBP4 与糖尿病并发症** 糖尿病肾病(DN)是 T2DM 最常见的微血管并发症之一,是目前糖尿病患者的主要死亡原因之一。张博等<sup>[7]</sup>发现 RBP4 在糖尿病动脉粥样硬化中表达明显增高,显示 RBP4 不仅促进胰岛素抵抗,而且参与糖尿病大血管病变的发生发展。周奎臣和李合峰<sup>[8]</sup>对 60 例 DN 患者与健康人进行对照发现血 RBP4 的阳性率高于血清肌酐的阳性率,因此检测血清中的 RBP4 浓度能反映早期糖尿病患者的肾功能情况,对于预防 DN 有积极意义。Garbre 等<sup>[9]</sup>研究也发现慢性肾功能不全的糖尿病患者的血清 RBP4 显著升高,血清 RBP4 水平与血清肌酐水平呈显著正相关,而与尿蛋白排泄率无显著相关,提示血清肌酐是慢性肾功能不全的独立相关。

### 2 RBP4 与肝病

由于 RBP4 主要是由肝细胞粗面内质网合成,因此从理论上来说在肾功能健康的情况下,血清 RBP4 的水平与肝细胞的功能呈正相关。对 100 例肝病患者进行研究发现,肝病患者 RBP4 明显低于健康对照组,而且与肝脏的损伤程度密切相关,随着肝功能损伤的加重,下降愈加明显。

### 3 RBP4 与肾脏疾病

生理情况下,RBP 分泌后会特异性结合全反式视黄醇形成 holo-RBP4,再在血液中与甲状腺素运载蛋白 1:1 结合形

成大分子复合物,从而防止相对分子质量低的 RBP4 被肾小球滤过。当视黄醇被转运到靶细胞后,RBP4 便游离到血浆中,被肾小球迅速滤过,在肾小管几乎又被全部重吸收并分解供组织利用,仅有少量从尿中排出,在生理状态下,肾小球基底膜对保持血清 RBP4 起重要作用,不被滤过使血清 RBP4 水平稳定。而糖尿病患者由于肾小球基底膜电势异常改变,肾小球系膜基底增厚,改变了肾小球滤过率,从而导致血 RBP 的浓度升高。Murata 等<sup>[10]</sup>研究发现,随着 DN 的进展血清 RBP4 逐渐升高,RBP4 水平与血肌酐呈正相关,与 eCFR 呈负相关。张素华等<sup>[11]</sup>对 116 例 T2DM 患者研究也证实了这一点。多项研究证明肾功能与 RBP4 水平明显相关。Ziegelmeier 等<sup>[12]</sup>发现长期血液透析患者的 RBP4 水平较对照组明显升高,并且认为血肌酐水平与 RBP4 水平独立相关,即使是轻、中度肾损害,血清 RBP4 水平也与肾功能相关,而在终末期肾病患者中,RBP4 浓度显著增加。

### 4 RBP4 与心血管疾病

脂类紊乱是导致冠心病和动脉粥样硬化主要危险因素。高璐等<sup>[13]</sup>发现冠心病组血浆 RBP4 水平明显高于健康对照组,并且 RBP4 与胆固醇、三酰甘油(TG)呈正相关,通过多元逐步回归分析 RBP4 与 TG 独立相关。Graham 等<sup>[14]</sup>研究也发现,血清中 RBP4 增高与血清 TG 水平增高及高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平降低呈正相关。但 Mallat 等<sup>[15]</sup>发现 6 年随访中发展成冠状动脉性心脏病(CAD)的 1 036 例患者中,CAD 发生的风险随 RBP4 水平的升高而增高,但是这种相关性在校正了传统心血管疾病危险因素后消失了,故认为血清 RBP4 尚不能作为预测冠状动脉疾病的新的危险因素。尽管研究存在着差异,但 Vou Eynatten 等<sup>[16]</sup>提示 RBP4 在内脏脂肪细胞功能紊乱和动脉粥样硬化性血管病变中起重要的媒介作用。

综上所述,RBP4 作为一种分泌蛋白已证实人体糖脂代谢、胰岛素抵抗、动脉硬化、高血压、炎症过程中等具有重要的生物活性,尤其在肾脏疾病的诊断及治疗中具有重要意义,因此可以作为一种评价肾脏疾病特别是肾小管损伤疾病良好指标。此外,对肝脏系统疾病,甲状腺腺功能亢进,吸收不良综合征均有良好的诊断意义。目前对 RBP4 的研究尚处于起步阶段,许多研究结论还存在分歧,RBP4 如何参与胰岛素抵抗及其具体机制尚不明确,有待于进一步研究。并且,RBP4 与年龄、性别等是否存在某种相关性以及与其他脂肪因子的相互作用关系,仍需进一步明确。因此,关于 RBP4 的临床应用需要进行更多更深入的研究。

### 参考文献

- [1] 黎明,纪宝华.代谢综合征和胰岛素抵抗的认识进展[J].基础医学与临床,2006,26(1):12-20.
- [2] Yang Q,Graham TE,Mody N,et al. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and Type 2 diabetes [J]. Nature,2005,436(7049):356-362.
- [3] Graham TE,Yang Q,Blucher M,et al. Retinol binding protein 4 and insulin resistance in lean obese and diabetic subjects[J]. N Engl J Med,2006,354(24):2552-2563.
- [4] 张博,张黎军.视黄醇结合蛋白 4 与代谢综合征关系的研究进展[J].武汉大学学报:医学版,2011,32(2):276-278.
- [5] 吴海娅,贾伟平,魏丽,等.肥胖及 2 型糖尿病患者血清视黄醇结合蛋白 4 水平的变化及其临床意义[J].中华内分

泌代谢杂志, 2006, 22(3): 290-293.

- [6] Janke J, Engeli S, Boschmann M, et al. Retinol binding protein 4 in human obesity [J]. Diabetes, 2006, 55(10): 2805-2810.
- [7] 张博, 张黎军. 视黄醇结合蛋白 4 在糖尿病动脉粥样硬化大鼠血清中的表达及意义[J]. 中国老年学杂志, 2010, 30(4): 515-517.
- [8] 周奎臣, 李合峰. 视黄醇结合蛋白检测在糖尿病早期肾病的应用[J]. 中国医药导报, 2010, 7(13): 83.
- [9] Cabre A, Lazaro L, Girona, et al. Retinol binding protein 4 as a plasma biomarker of renal dysfunction and cardiovascular disease in type 2 diabetes [J]. Intem Med, 2007, 262(4): 496-503.
- [10] Murata M, Saito T, Otani T, et al. An increase in serum retinol binding protein 4 in the type 2 diabetic Subjects with nephropathy[J]. Endocrine journal. 2009, 56(2): 287-294.
- [11] 张素华, 张真, 解松刚, 等. 视黄醇结合蛋白与胱抑素 c 诊断早期 2 型糖尿病肾病的价值[J]. 江苏医药, 2010, 36(7): 772-773.

- [12] Ziegelmeier M, Bachmaun A, Seeger J, et al. Serum levels of adipokine retinol binding protein 4 in relation to renal function Diabetes Care [J]. Intem Med, 2007, 30(10): 2588-2592.
- [13] 高璐, 常志文, 秦明照, 等. 视黄醇结合蛋白 4 与冠心病的关系[J]. 医药论坛杂志, 2010, 31(15): 10-11.
- [14] Graham TE, Yang Q, Blaher M, et al. Retinol binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese and diabetic subjects [J]. N Engl J Med, 2006, 354(24): 2552-2563.
- [15] Mauat Z, Simon T, Bencssiano J. Retinol-binding protein 4 and prediction of incident coronary events in healthy men and wanan[J]. J Clin Endocrinol Metabk, 2009, 94(1): 255-260.
- [16] vou Eynatten M, Lepper PM, Liu D, et al. Retinol-binding protein 4 is assoeiated with components of the metabolic syndrome, but not with insulin resistance, in men with type 2 diabetes or coronary artery disease [J]. Diabetologia, 2007, 50(9): 1930-1937.

(收稿日期: 2012-06-08)

## 脂联素与心血管疾病的相关性

卓志娟, 雷 鸣 综述, 夏先考 审校(湖南省常德市第一人民医院检验科 415000)

【关键词】 脂联素; 心血管疾病; 心力衰竭

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2012. 23. 044 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)23-2992-03

脂联素(APN)是近年发现的一种由脂肪细胞合成并分泌的血浆蛋白,具有广泛而活跃的生物学作用,在能量代谢、改善胰岛素抵抗、抗炎性反应及抗动脉粥样硬化的形成等生理病理过程中发挥重要的调节作用。研究显示,血浆 APN 水平在糖尿病、动脉粥样硬化及急性冠脉综合征患者体内明显降低,在慢性心力衰竭患者体内明显升高<sup>[1-2]</sup>。

### 1 APN 的发现与结构

1995 年 Scherer 等<sup>[3]</sup>通过实验克隆出 Acrp30,发现脂联素的存在。其后,它又被命名为 apM 1, adipoQ, GBP28 等,目前比较公认的名称为脂联素(APN)。APN 由 24 个氨基酸组成,其氨基酸组成与胶原 VIII、X 及补体成分 C1q 有同源性。APN 以聚合体的形式存在,3 个单体通过球形结构域连接成同源三聚体,再以二硫键构成低相对分子质量六聚体,4~6 个三聚体可结合成高分子质量多聚体,循环中大部分(大于 80%)的 ANP 是以多聚体的形式发挥生理作用。APN 受体有 Adipor1 和 Adipor2 2 型,前者广泛存在于骨骼肌,对球形 APN(gAd APN)具有高亲和力<sup>[4]</sup>,但对全长 APN(fAd APN)亲和力低;后者主要存在于肝脏,对 gAd APN 和 fAd APN 都具有中等亲和力。APN 受体与胰岛素敏感性呈正相关,APN 可能通过与其受体 Adipor1 和 Adipor2 结合,经过氧化物酶体增殖物活化受体  $\alpha$  途径和腺苷酸活化蛋白激酶途径发挥抗炎性、抗氧化、抑制细胞凋亡、刺激一氧化氮生成和增加胰岛素敏感性的效应。

### 2 APN 的功能

2.1 APN 对糖脂代谢的影响 基础研究表明,APN 在糖脂代谢的多个环节中发挥作用<sup>[5]</sup>。在骨骼肌,APN 可以增加胰

岛素受体的酪氨酸磷酸化,直接促进胰岛素受体及受体后水平信号传导,从而增加胰岛素的敏感性;在肝脏,APN 通过减低脂肪酸输入,增加脂肪酸的氧化而减低肝糖输出和极低密度脂蛋白、三酰甘油的合成,调节糖脂代谢;在心脏,APN 通过增加能量供应,减少由前列腺素诱导的肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )的合成而抑制凋亡,同时还可以抑制脂肪组织 TNF- $\alpha$  信号转导, TNF- $\alpha$  与血浆 APN 呈负相关。TNF- $\alpha$  活性减少可改善胰岛素敏感性。近年来的研究还发现,脂肪组织在胰岛素抵抗的发生、发展中起着关键作用。实验发现,由脂肪细胞或脂肪组织分泌的 APN 在胰岛素抵抗及 2 型糖尿病中扮演了重要角色<sup>[6]</sup>。

2.2 APN 抗血管内皮细胞炎性 APN 通过在损伤血管处积聚,抑制血管内皮细胞内黏附分子的表达和巨噬细胞中细胞因子的产生,抑制内皮炎性反应和平滑肌细胞增殖,抑制单核细胞和巨噬细胞的移动以及向泡沫细胞的转化来抑制炎症反应。一些研究显示,APN 能减弱 TNF- $\alpha$  诱导的肝素钠结合的表皮生长因子在培养的内皮细胞的表达。此外,APN 的抗炎效应还包括抑制白细胞集落的形成,降低吞噬细胞的活性以及减少巨噬细胞分泌 TNF- $\alpha$  等。另外, Kohayashi 等<sup>[7]</sup>证实 APN 可活化内皮细胞的凋亡,这一作用主要是通过腺苷酸激活蛋白酶(AMPK)信号途径实现的。有研究发现,在血管成形术造成损伤的血管内皮及内皮间隙有 APN 聚集,而周围完整无损的内皮及内皮间隙中找不到 APN,表明 APN 参与血管损伤修复,提示 APN 在血管重塑中起调节剂的作用。

### 3 APN 与心血管疾病

在多种心血管疾病中,如冠状动脉粥样硬化心脏病(冠心