

characteristics of intestinal and diffuse-type gastric carcinoma in Japan: an immunostaining study on the tissue microarray[J]. J Clin Pathol, 2007, 60(3): 273-277.

[28] Han ZD, He HC, Bi XC, et al. Expression and clinical significance of CD147 in genitourinary carcinomas[J]. J Surg Res, 2010, 160(2): 260-267.

[29] Mamori S, Nagatsuma K, Matsuura T, et al. Useful detection of CD147 (EMMPRIN) for pathological diagnosis of early hepatocellular carcinoma in needle biopsy samples [J]. World J Gastroenterol, 2007, 13(21): 2913-2917.

[30] Vigneswaran N, Beckers S, Waigel S, et al. Increased EMM-PRIN (CD 147) expression during oral carcinogenesis[J]. Exp Mol Pathol, 2006, 80(2): 147-159.

[31] Als AB, Dyrskjot L, von der Maase H, et al. EMMPRIN and survivin predict response and survival following cisplatin-containing chemotherapy in patients with advanced bladder Cancer[J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(15): 4407-4414.

(收稿日期: 2013-01-23 修回日期: 2013-03-16)

## 血同型半胱氨酸检测的临床意义

邓旭<sup>1</sup>综述, 贾得志<sup>2</sup>审校(1. 胜利石油管理局孤岛医院检验科, 山东东营 257231; 2. 胜利石油管理局滨海医院检验科, 山东东营 257237)

**【关键词】** 同型半胱氨酸; 高同型半胱氨酸血症; 心脑血管疾病

**DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2013. 15. 066 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)15-2037-03**

同型半胱氨酸(HCY)是一种含硫的氨基酸, 是蛋氨酸转化成半胱氨酸代谢过程中能量代谢的一个重要中间产物, 主要通过再甲基化途径、转硫化途径释放到细胞外液代谢。它的致病机理主要包括损伤血管内皮细胞、促进血管平滑肌细胞增殖、影响凝血系统及脂质代谢。大量研究表明 HCY 与心脑血管疾病等常见临床疾病有着密切的关系, 本文就 HCY 研究的进展综述如下。

### 1 HCY 的来源及存在形式

HCY 于 1932 年由 DeVgneaud 发现, 主要来源于饮食摄入的蛋氨酸, 是蛋氨酸循环中 S-腺苷 HCY 水解反应后的产物。同时, 又是胱硫醚-β-合成酶(CβS)合成胱硫醚的底物, 其结构为 HSCH<sub>2</sub>(NH<sub>2</sub>)CO<sub>2</sub>H。血液中的总 HCY 包括氧化型及还原型 HCY, 其中绝大多数以氧化型存在, 还原型仅占 1% 左右; 大部分(80%~90%)与蛋白结合, 其余少部分与 HCY 自身结合成二聚体(Hcy-SS-Hcy)或与半胱氨酸等结合成混合型 HCY 二硫化物(cy-SS-Hcy)。蛋氨酸循环的重要生理意义在于提供甲基以合成多种生理活性物质, 并参与蛋白质的合成。上述代谢途径中酶的遗传代谢障碍或营养物质的缺乏都可导致血中 HCY 的蓄积。酶缺陷中最经典的是 CβS 缺乏, 其次是 5, 10-次甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)和甲基四氢叶酸-HCY 甲基转移酶的缺陷。

### 2 HCY 的代谢过程

HCY 代谢途径有 3 条。(1)再甲基化途径: HCY 被重新甲基化为蛋氨酸, 此反应需要蛋氨酸合成酶参与, 同时需要维生素 B<sub>12</sub> 作为辅酶, 在此条件下, HCY 与 5'-甲基四氢叶酸合成蛋氨酸和四氢叶酸。肝脏中存在着另一条再甲基化途径, 该途径以甜菜碱为甲基供体, 在甜菜碱 HCY 甲基转移酶催化下合成蛋氨酸和二甲基甘氨酸。(2)转硫化途径: HCY 与丝氨酸缩合成胱硫醚的反应, 该反应由 CβS 催化, 维生素 B<sub>6</sub> 为辅酶, 缩合成胱硫醚及水。这一反应在生理条件下不可逆, 利于 HCY 转运。生成的胱硫醚在 γ-胱硫醚酶作用下裂解为半胱氨酸和 α-酮丁酸, 并被进一步代谢为硫酸盐分泌入尿液中排泄。(3)直接释放到细胞外液, 这与血浆浓度密切相关。释放到细胞外的 HCY 增加反映了其生成和代谢的紊乱。有研究表明, 蛋氨

酸的浓度可以影响 HCY 从细胞释放, 在低浓度时, 细胞释放受到蛋氨酸合成酶的影响; 而高浓度时, 细胞释放则受到胱硫醚合成酶的影响。

### 3 影响 HCY 代谢的因素

健康成人血液 HCY 浓度为 5~15 μmol/L, 儿童 HCY 水平明显低于成人<sup>[1]</sup>。影响 HCY 代谢的因素分为遗传性因素和获得性因素。在遗传及环境因素作用下, 血液中 HCY 浓度有不同程度的变化。当血液中 HCY 浓度超出正常范围, 称高 HCY 血症(HHE)。Kang 等<sup>[2]</sup>把 HHE 分为 3 型: 轻型(HCY 浓度 16~30 μmol/L)、中型(HCY 浓度 31~100 μmol/L)和重型(HCY 浓度超过 100 μmol/L)。影响 HCY 代谢的遗传因素主要有 CβS 和 MTHFR 基因的缺陷。前者常导致重度 HHE, 后者是造成轻、中度 HHE 的主要原因, 而轻、中度 HHE 是成人心脑血管疾病的重要危险因素。影响 HCY 代谢的获得性因素主要有叶酸、维生素 B<sub>12</sub> 和维生素 B<sub>6</sub>。已有的研究表明, 血液中这些因素尤其是叶酸的浓度与 HCY 呈负相关。多个研究证实叶酸、维生素 B<sub>12</sub> 干预治疗可以降低血液中 HCY 的浓度。此外, 个体的生活方式、药物、疾病及其他因素也会对 HCY 的代谢造成一定影响。

### 4 HCY 的致病机制

**4.1 HCY 对血管平滑肌细胞(VSMC)的影响** HCY 产生大量的自由基加速低密度脂蛋白胆固醇(LDL)氧化, 诱导血管平滑肌增生, 徐志红等<sup>[3]</sup>进行大鼠模型研究发现, 较低浓度 HCY 刺激 12~48 h, VSMC 的增殖加速, 认为可能通过改变纤维斑块中胶原类引起斑块不稳定和易受损, 加速粥样斑块的发生和发展。王生兰等<sup>[4]</sup>将不同浓度 HCY 作用于 VSMC 细胞 24 h 后, 采用血甲其偶氮唑盐微量酶反应比色法和流式细胞术检测, HCY 可引起细胞增殖率增加, S 期细胞逐渐增多, G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞逐渐减少。通过透射电镜发现高 HCY 作用后的 VSMC 胞浆中内质网、高尔基复合体明显增多, 胞核大, 染色体疏松, 表明 HCY 可在促进 VSMC 增殖的同时加速其表型的转化。高 HCY 可通过兴奋氨基酸受体或氧化还原受体而激活蛋白激酶 C、降低细胞内 cAMP、抑制蛋白激酶 A 等, 进而促进促丝裂素激酶(mAPK)和增加细胞周期调控基因(如 CDK、

cyclinA)的表达,导致 VSMC 增殖及胶原合成,在使用选择性蛋白激酶 C 或 mAPK 抑制剂后该促进作用受阻<sup>[5]</sup>。

**4.2 HCY 对脂质代谢的影响** HCY 的氧化形式半胱氨酸硫内酯可使 LDL 载脂蛋白 B(ApoB)的游离氨基酸酯化形成硫内酯,硫内酯被巨噬细胞吞噬后形成泡沫细胞,促进细胞摄取并使 LDL 凝聚剂胆固醇沉着钙化,构成新生的动脉粥样硬化斑块。此外,HCY 能加强 LDL 的自身氧化,而氧化的 LDL 能影响 NO 的合成及凝血酶调节蛋白的活性,导致血管内皮细胞受损<sup>[6]</sup>。

**4.3 HCY 对血管内皮细胞的毒性作用**

**4.3.1 诱发氧化应激反应** 在金属离子的作用下,HCY 自发氧化,产生超氧化物和过氧化氢,使内皮细胞损伤和 LDL 氧化,导致血管平滑肌持续性的收缩,诱发氧化应激反应<sup>[7]</sup>,从而破坏内皮细胞的形态和功能完整性。此外,还可通过降低体内谷胱甘肽过氧化酶及超氧化物歧化酶的活性,诱导氧化应激反应,损伤内皮细胞。张冀<sup>[8]</sup>研究发现,HCY 的生理浓度在 Cu<sup>2+</sup> 的介导下,可能通过氧化应激损伤的机制而导致血管内皮细胞凋亡。

**4.3.2 降低 NO 的生物利用度** 可以与内皮来源的 NO 反应生成 S-亚硝基 HCY,诱导 NO 的失活,降低 NO 的生物利用度,使内皮细胞对表面氧化的抵抗力减弱而受到损伤<sup>[9]</sup>。

**4.3.3 干扰 DNA 和蛋白质的甲基化** HCY 产生的大量 s-腺苷 HCY,可竞争性抑制体内的甲基化反应,干扰 DNA 和蛋白质的甲基化,引起 DNA 低甲基化,从而引起内皮细胞结构与功能改变。

**4.3.4 改变基因表达和内皮细胞表型** HCY 可诱导内皮细胞黏附分子如细胞间黏附分子、血管趋化黏附因子和 E-选择素等的表达和增加内皮细胞的渗透性,引起内皮细胞的损伤。

**4.4 HCY 对凝血系统的影响** HCY 可以抑制蛋白 C 及其活化的辅助因子血栓调节蛋白的活性,HCY 所产生的过氧化氢干扰了内皮细胞表面的硫酸乙酰肝素的合成,使抗凝血酶和内皮细胞表面的硫酸乙酰肝素的结合能力下降;抗凝活性降低,HCY 促进纤溶酶原激活物抑制剂的表达,抑制了组织型纤溶酶原激活物的结合作用,增加了血液中血小板的黏附性,引起血栓形成。HCY 的活化形式可促使血小板聚集并与载脂蛋白 B 形成致密复合物,易于被血管壁巨噬细胞吞噬引起血管壁脂肪堆积,极易形成血管壁硬化和斑块。此外 HCY 还可直接激活凝血因子 X、Ⅻ 和 V,抑制凝血调节蛋白在内皮细胞表面的表达及活性,而从减少对 Va、Ⅷa 和凝血酶的灭活。

**4.5 诱发炎症因子的表达** 目前认为炎症反应贯穿于动脉粥样硬化形成的整个过程。姜亚林等<sup>[10]</sup>研究认为炎症因子如 IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8 等分泌过多是高 HCY 促进动脉粥样硬化的重要机制之一。郭雪微和杨泉<sup>[11]</sup>采用免疫荧光流式细胞仪检测体外 HCY 和健康人血白细胞表面黏附分子 CD11b、CD18 的表达,结果发现 HCY 体外可明显增加 CD11b、CD18 的表达,且随着 HCY 浓度的上升而增强,提示 HCY 可引起体外白细胞黏附分子表达。

## 5 HCY 的检测方法

**5.1 循环酶法** 此方法是近年发展起来的,可用于自动生化分析仪的一种技术,它使 HCY 检测更加快速、方便。其原理是结合的 HCY (氧化形式)被还原成游离的 HCY,在 CpS 的催化下和丝氨酸反应生成 L-胱硫醚,后者被胱硫醚- $\beta$  裂解酶分解成 Hcy 和丙酮酸,丙酮酸参与 NADH 显色反应,生成的

HCY 再次参与第一步反应,如此循环。该方法与高效液相色谱法(HPLC)法相关性良好,无需样本预处理,目前正被国内外广泛采用。

**5.2 HPLC** 此方法是目前比较成熟且可推广使用的方法,方法学包括柱前衍生-HPLC-荧光检测法、HPLC-柱后衍生-紫外检测法或荧光检测法和 HPLC-电化学检测法。目前已有 HCY 全自动的 HPLC-荧光检测仪问世,测定精度和分析速度可用于大样本分析。

**5.3 酶免疫测定法** 这种方法需要将 HCY 先转化为 s-腺苷 HCY,然后加入辣根过氧化物酶标记的单克隆抗体,最后加入辣根过氧化物酶的底物,并在 450 nm 处检测。加入蛋氨酸与半胱氨酸对检测结果均无影响,无交叉反应。这种方法的检测结果与 HPLC 检测结果的相关性较高。

**5.4 同位素法** 通过<sup>14</sup>C 标记的腺苷与 HCY 缩合后,经色谱分离,液体闪烁计数放射强度来测定 HCY 浓度。该法灵敏度高、特异性强,但由于操作繁琐且有放射污染,虽经改良也未能推广使用。

**5.5 荧光偏振免疫检测法** 该方法灵敏度高,检测速度快,但价格昂贵,故短时期内不易普及。检测时,首先用二巯基蔗糖将结合型 HCY 还原出来,然后通过特异性的 s-腺苷 HCY 合成酶催化 HCY 转变为 s-腺苷 HCY,与作为示踪物的荧光素标记 s-腺苷 HCY 类似物一起与特异性单克隆抗体竞争性结合,引起示踪物偏光性改变,从而检测出 HCY 浓度。

## 6 HCY 的临床意义

### 6.1 HCY 与心血管疾病

**6.1.1 HCY 与动脉粥样硬化(AS)** AS 是动脉硬化血管病中常见的最重要的一种,其特点是受累动脉病变从内膜开始。一般先有脂质和复合糖类积聚、出血及血栓形成,纤维组织增生及钙质沉着,并有动脉中层的逐渐蜕变和钙化,病变常累及弹性及大中等肌性动脉,一旦发展到足以阻塞动脉腔,则该动脉所供应的组织或器官将缺血或坏死。近几十年来 HCY 水平升高被认为是与血管事件风险增加相关的<sup>[12]</sup>。Clarke 等<sup>[13]</sup>发现 VSMC 凋亡在 AS 斑块的形成、发展和破裂中起重要作用。刘颖等<sup>[14]</sup>证实高 HCY 可使 VSMC 增生,促进 LDL 氧化,降低高密度脂蛋白胆固醇的保护性作用,使泡沫细胞产生增多,从而导致血管壁增厚和 AS 斑块形成。研究发现一定剂量的 HCY 可促进离体培养的 WKY 大鼠 VSMC 增殖,使其 DNA 合成增加,细胞周期中 S 期细胞所占比例增加 43%,并促进 c-mys 与 c-fos 原癌基因 mRNA 表达增加,提示 HCY 可能通过促进 VSMC 增殖而诱发 AS。研究表明<sup>[15]</sup> HCY 可损伤内皮细胞使其修复延迟,激活炎症因子,同时通过氧化应激作用促进 AS 的发生和发展。

**6.1.2 HCY 与冠心病** 目前,国际上对高 HCY 血症是冠心病的一个独立、重要的危险因素的观点取得了共识,检测血 HCY 的水平对早期预防和治疗冠心病有重要的作用。覃玉忠<sup>[16]</sup>研究表明,冠心病患者血清中 HCY 水平随着病情逐渐加重而升高;孙淑红等<sup>[17]</sup>发现,冠心病患者血浆 HCY 水平明显升高,HHE 的检出率高。随着冠状动脉病变支数增加,血浆 HCY 水平有逐步升高的趋势。血浆 HCY 水平与冠状动脉病变的严重程度一致。冯莉等<sup>[18]</sup>证实,冠心病患者的血清 HCY 与其冠脉病变程度密切相关,可用于预测冠脉病变的严重程度。也有研究表明,补充维生素和叶酸可以降低 HCY 的水平,但是对冠心病的防治无明显影响,说明 HCY 可能是冠心

病的标志物而非发病的原因。

**6.1.3 HCY 与慢性心力衰竭** HCY 水平升高所造成的影响更多的是在细胞外基质,增加基质金属蛋白酶活性,加剧心肌纤维化,导致左心室重构,最终造成心力衰竭。在临床实践中,HCY 可以作为慢性心力衰竭的一个危险标志物。

**6.2 HCY 与脑血管疾病** 大量的临床研究和流行病学调查证实,血 HCY 水平升高与脑血管疾病有密切关系。轻度血管性认知功能障碍(MVCI)是轻度认知障碍的一个亚型,是血管性痴呆(VD)的前期阶段。该病起病隐匿,认知障碍程度尚未达到痴呆诊断标准,但随时间推移和病情发展,多数 MVCI 将发展为 VD。研究推测,HCY 对于 MVCI 的影响可能促进脑内小动脉硬化及神经细胞毒性作用,导致脑梗死和脑萎缩,从而引起认知功能障碍。

颈动脉硬化(CAA)是引起脑梗死最常见的原因,而引起 CAA 的原因是多元的,控制其危险因素成为防治脑梗死的主要手段。有研究表明<sup>[19]</sup>,高 HCY 是引起 CAA 的独立危险因素,并且血 HCY 水平随年龄增长而升高,颈动脉硬化脑梗死患者的 HCY 水平明显高于健康人群。

**6.3 HCY 与其他疾病** 有研究发现<sup>[20]</sup>,胃癌患者血清 HCY 水平明显高于对照组,叶酸水平明显低于对照组。叶酸缺乏是导致胃癌患者血 HCY 水平升高的一个主要原因,胃癌患者体内存在蛋氨酸代谢障碍,高 HCY 水平及低叶酸水平可能在胃癌发病中发挥作用。

近年研究表明,HCY 可协同糖尿病中的糖基化终末代谢产物,加剧血管内皮损伤,从而促使糖尿病患者尿微量清蛋白的发生。有报道称,35%的 2 型糖尿病患者伴有高 HCY 血症,而在糖尿病伴肾脏、视网膜及心血管并发症的患者中更为显著。因此,对糖尿病患者常规检测 HCY 水平可以早期发现和干预高 HCY 血症,对糖尿病血管病变发病机制的研究和防治具有重要意义。

## 7 结 语

高 HCY 不仅与心脑血管疾病密切相关,而且也与许多常见病如血管性认知功能损害、老年痴呆、CAA、糖尿病、胃癌等有一定关系。目前的研究已经证实,HHE 是心脑血管疾病的独立危险因素。我国的心脑血管疾病逐年增加,除了要关注传统的危险因素外,对高 HCY 现象,应给予重视,及早检出,积极地进行综合干预,有利于心脑血管等疾病的早期防治。

## 参 考 文 献

[1] Osganian SK, Stampfer MJ, Spiegelman D, et al. Distribution of and factors associated with serum homocysteine levels in children: child and adolescent trial for cardiovascular health[J]. JAMA, 1999, 281(13): 1189-1196.

[2] Kang SS, Wrong PWK, Malinow MR. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for occlusive vascular disease[J]. Ann Rev Nutr, 1992, 12: 279-298.

[3] 徐志红, 陆国平, 吴春芳. 同型半胱氨酸对大鼠血管平滑肌细胞增殖及胶原生成的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(2): 226-229.

[4] 王生兰, 刘辉琦, 曹学峰, 等. 同型半胱氨酸促进大鼠血管平滑肌细胞增殖和表型转化[J]. 中国病理生理杂志, 2010, 26(7): 1321-1324.

[5] Austin RG. Role of hyperhomocysteinemia in endothelial dysfunction and atherothrombotic disease[J]. Cell Death Differ, 2004, 11(1): 56-64.

[6] Spencer CG, Martin SC, Felmeden DC, et al. Relationship of homocysteine to markers of platelet and endothelial activation in "high risk" hypertensives: a substudy of the anglo-scandinavian cardiac outcomes[J]. Trail Int J Cardiol, 2004, 94(23): 293.

[7] Tanriverdi H, Evrengul H, Enli Y, et al. Effect of homocysteine-induced oxidative stress on endothelial function in coronary slow-flow[J]. Cardiology, 2007, 107(4): 313-320.

[8] 张冀. 同型半胱氨酸诱导血管内皮细胞凋亡的研究[J]. 武汉生物工程学院学报, 2006, 2(2): 85-90.

[9] Verdejo PJ. Endothelial function[J]. Arch Cardiol Mex, 2006, 76(Suppl 2): 164-169.

[10] 姜亚林, 郭晓林, 谭岩. 高同型半胱氨酸血症兔动脉粥样硬化模型炎性介质的变化及意义[J]. 吉林大学学报: 医学版, 2008, 24(2): 230-232.

[11] 郭雪薇, 杨泉. 同型半胱氨酸与白细胞黏附分子 CD11b、CD18 关系的体内外研究[J]. 中国心血管病研究, 2008, 6(12): 888-891.

[12] Lengyel S, Katona E, Zatik J, et al. The impact of serum homocysteine on intima-media thickness in normotensive, white-coat and sustained hypertensive adolescents[J]. Blood Press, 2012, 21(1): 39-44.

[13] Clarke MC, Littlewood TD, Figg N, et al. Chronic apoptosis of vascular smooth muscle cells accelerates atherosclerosis and promotes calcification and medial degeneration[J]. Circ Res, 2008, 102(12): 1529-1538.

[14] 刘颖, 李永杰, 高旭光. 急性脑梗死患者血浆同型半胱氨酸水平及相关因素分析[J]. 中国全科医学, 2006, 9(19): 1161.

[15] 吴园园, 李志. 急性冠状动脉综合征患者血清同型半胱氨酸检测的临床意义[J]. 实用医技杂志, 2012, 19(5): 507-508.

[16] 覃玉忠. 血清同型半胱氨酸与冠心病的相关性分析[J]. 中国误诊学杂志, 2012, 12(4): 843-844.

[17] 孙淑红, 胡大一, 关立克, 等. 血浆同型半胱氨酸水平与冠状动脉病变程度的相关性研究[J]. 中国水电医学, 2006, 20(5): 30-31.

[18] 冯莉, 吕吉元, 薛立新. 血清同型半胱氨酸与冠状动脉病变关系的分析[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2012, 10(5): 549-550.

[19] Makis M. Hyperhomocysteinemia and thrombosis[J]. Clin Lab Haematol, 2000, 22(3): 133-134.

[20] 郭满盈, 葛丽卫, 杨伟平. 胃癌患者血清同型半胱氨酸、叶酸及维生素 B<sub>12</sub> 水平的初步探讨[J]. 检验医学, 2010, 25(2): 95.