

颅脑损伤患者血清 α II 血影蛋白裂解产物(SBDPs)水平检测的临床意义*

卜晓敏¹, 宋佳希¹, 樊春荔¹, 万淑君¹, 郭鹏涛², 马艳娟², 汪俊军¹ (1. 南京大学医学院附属金陵医院 临床检验科, 南京 210002; 2. 解放军第四十一医院, 西藏山南 856000)

摘要:目的 分析脑外伤患者血清中 α II 血影蛋白裂解产物(SBDPs, 包括 SBDP120 和 SBDP145)水平, 探讨其对该病尤其是轻型脑外伤患者的临床价值。方法 采用酶联免疫吸附法检测 43 例重型脑外伤(sTBI)患者、43 例轻型脑外伤(mTBI)患者和 43 例常规体检正常者(对照组)血清 SBDP145 和 SBDP120 水平, 受试者工作特征曲线(ROC)评估 SBDPs 对 sTBI、mTBI, 判断头颅 CT 阴性和阳性患者的辅助诊断效能。结果 三组间血清 SBDP145 水平差异无统计学意义($F=1.340, P>0.05$)。对照组、mTBI 及 sTBI SBDP120 含量分别为 7.06 ± 2.23 , 11.67 ± 9.14 和 12.64 ± 11.44 ng/ml。与对照组相比, sTBI 组($F=9.873, P=0.001$)和 mTBI 组($F=9.873, P=0.008$)血清 SBDP120 均显著升高, 差异有统计学意义; 但 sTBI 组和 mTBI 组间 SBDP120 水平差异无统计学意义($F=9.873, P=0.515>0.05$)。SBDP120 鉴别 TBI 和对照组的 AUC 为 0.781(95% CI: 0.690~0.872, $P<0.001$); 鉴别 mTBI 和对照组的 AUC 为 0.736(95% CI: 0.624~0.848, $P<0.001$); 鉴别头颅 CT 阴性和阳性患者的 AUC 为 0.709(95% CI: 0.582~0.837, $P=0.007<0.01$)。结论 轻型脑外伤患者血清 SBDP120 水平显著升高, 是潜在的轻型脑外伤辅助诊断生物标志物。

关键词: 颅脑损伤; 血清; α II 血影蛋白裂解产物; 生物标志物

中图分类号: R651.15; R392.11 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2017)01-009-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2017.01.003

Study on Serum Levels of SBDPs and Their Clinical Significance in Patients with Traumatic Brain Injury

BU Xiao-min¹, SONG Jia-xi¹, FAN Chun-li¹, WAN Shu-jun¹, GUO Peng-tao², MA Yan-juan², WANG Jun-jun¹ (1. Department of Clinical Laboratory Medicine,

Jinling Hospital, Medical School of Nanjing University, Nanjing 210002, China;

2. Department of Pathology, No. 41 Hospital of PLA, Xizhang Shannan 856000, China)

Abstract: **Objective** To analyze the changes of serum levels of α II-spectrin breakdown products (SBDPs) in traumatic brain injury (TBI) patients, and further to investigate the clinical diagnosis value of SBDPs for patients with TBI, especially with mTBI. **Methods** The serum levels of SBDPs were examined in 43 severe TBI (sTBI) patients, 43 mild TBI (mTBI) patients and 43 healthy controls using enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The diagnostic usefulness of SBDPs for TBI patients were assessed by Receiver Operating Characteristic (ROC) curves analysis. **Results** There was no significant difference of SBDP145 among the three groups ($F=1.340, P>0.05$). Serum levels of SBDP120 in controls, mTBI and controls were 7.06 ± 2.23 , 11.67 ± 9.14 and 12.64 ± 11.44 ng/ml, respectively. Compared with controls, serum levels of SBDP120 were significantly higher in patients with sTBI ($F=9.873, P=0.001$) and mTBI ($F=9.873, P=0.008$), while there was no significant difference of SBDP120 between sTBI patients and mTBI patients ($F=9.873, P=0.515>0.05$). The area under ROC curve (AUC) of SBDP120 for TBI patients was 0.781 (95% CI: 0.690~0.872, $P<0.001$). For mTBI patients, the area under ROC curve was 0.736 (95% CI: 0.624~0.848, $P<0.001$). And for discriminating TBI patients with CT negative or positive, the area under ROC curve was 0.709 (95% CI: 0.582~0.837, $P=0.007<0.01$). **Conclusion**

The serum levels of SBDP120 were significantly increased in TBI patients, especially mTBI patients. And the serum levels of SBDP120 can be used as potential non-invasive biomarker for mTBI patients.

Keywords: traumatic brain injury; serum; SBDPs; biomarkers

颅脑损伤(trumatic brain injury, TBI), 亦称为脑外伤或头部外伤, 即由外伤引起的脑组织损害, 其致死、致残率高^[1]。CT 及 MRI 在诊断和评估脑外伤中具有举足轻重的作用, 但却难以敏感地发现轻型脑损伤(mild traumatic brain injury, mT-

BI)的微小病变灶, 对 mTBI 的诊断作用有限。 α II 血影蛋白(α II -spectrin)在脑组织中表达, 多定位于神经元轴突和突触前末梢, 与突触小泡和神经元突触前膜的连接有关。研究表明 α II 血影蛋白可被钙蛋白酶(calpain)分解为 α II 血影蛋白裂解产

* 基金项目: 国家自然科学基金(81271904, 81401742, 81572073 和 81572074); 国家重大科学仪器设备开发专项(2012YQ03026109); 成都军区课题(C41007)。

作者简介: 卜晓敏(1989-), 女, 医学硕士研究生, 主要研究方向: 创伤性颅脑损伤生物标志物, E-mail: xiaominbubu@163.com。

通讯作者: 汪俊军(1966-), 男, 博士, 主任技师, 教授, E-mail: wangjj9202@163.com。

物(α II-spectrin breakdown products, SBDPs),包括 SBDP150 和 SBDP145,亦被天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-3(caspase-3)分解为 SBDP120。Calpain 和 caspase-3 是脑缺血和颅脑损伤后促进细胞凋亡的重要因子^[2]。脑外伤后,受损脑细胞中产生的 SBDPs 可能进入血液循环。近年来,临床上关于 SBDPs 水平检测的对象多数为患者脑脊液,而其在血清中的水平研究鲜有报道。因此,探讨颅脑损伤患者的血清 SBDP145 和 SBDP120 水平变化及差异,评估其对 mTBI 的潜在诊断价值,可望为临床脑外伤患者的辅助诊断提供新途径。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2015 年 7 月~2016 年 7 月于南京大学医学院附属金陵医院神经外科和急诊科收治的重型脑外伤(severe traumatic brain injury, sTBI)患者 43 例,其中男性 38 例,女性 5 例,平均年龄 49.29 ± 9.97 岁,平均收缩压为 139.00 ± 23.16 mmHg,其中一侧或双侧瞳孔有反应者 25 例,双侧均无反应者 18 例;mTBI 患者 43 例,其中男性 30 例,女性 13 例,平均年龄 47.50 ± 13.11 岁,平均收缩压为 130.96 ± 18.56 mmHg,均为一侧或双侧瞳孔有反应;两组患者根据受伤原因划分,交通伤共 53 例,坠落伤 9 例,不慎摔打 11 例,其他原因 13 例;受伤至入院平均时间为 3.7 ± 1.8 h。病例入选标准:①头颅外伤史明确,将未见明显外伤性改变的患者视为头颅 CT 阴性。发现下列情况之一均视为头颅 CT 阳性:颅骨骨折,硬膜下血肿,硬膜外血肿,脑挫裂伤,蛛网膜下腔出血。②重型组入院时格拉斯哥评分(Glasgow Coma Scale, GCS) ≤ 8 分,轻型组入院时 GCS > 12 分;排除标准:①并发严重的心、肝、肺、肾等脏器功能障碍,血液、免疫系统疾病,胃肠道缺血、脑缺血、恶性肿瘤;②并发其它部位损伤。采用格拉斯哥预后评分(glasgow outcome scale, GOS)评价 TBI 患者伤后 6 个月的预后情况,其评分细则为:5 分:恢复良好(尽管有轻度缺陷,可正常生活);4 分:轻度残疾(残疾,但可独立生活或能在保护下工作);3 分:重度残疾(残疾,虽清醒、日常生活需要照料);2 分:植物生存(仅有最小反应,如随着睡眠/清醒周期,眼睛能睁开);1 分:死亡。将 GOS 评分 1~3 分定义为预后差组,4~5 分定义为预后好组。同期选

取于南京大学医学院附属金陵医院健康体检中心进行常规体检的健康对照者共 43 例,其中男性 38 例,女性 5 例,平均年龄为 49.08 ± 9.52 岁,所有受试者均排除恶性肿瘤、自身免疫病、心肝肾等脏器损害及近期服用非固醇类消炎镇痛药、类固醇类和阿片类药物者。本研究取得患者或其家属的知情同意并签署书面函,且得到医院伦理委员会批准许可。

1.2 试剂和仪器 人血清 SBDP120 与 SBDP145 蛋白 ELISA 试剂盒(武汉华美生物有限公司),酶标仪(美国伯乐公司)。

1.3 方法

1.3.1 标本收集与保存:TBI 患者入院时立即采集,健康对照者禁食 12 h 以上,每份标本各 3.5 ml。所有标本均于室温 $3000 \times g$ 离心 5 min 后收集血清,最后将血清标本置于 -80°C 冰箱待测。

1.3.2 SBDP120 与 SBDP145 水平测定:采用 ELISA 法检测血清 SBDP120 与 SBDP145,严格按照试剂说明书的方法进行操作,用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度 A,绘制标准曲线,计算标本中 SBDP120 与 SBDP145 的水平。

1.4 统计学分析 数据分析用 SPSS16.0 软件进行。数据分析前各组数据均以 Kolomogorov-Smirnow 法检验其分布特征,偏态数据经对数转换后再进行分析。正态数据两组间比较采用两组独立样本的 t 检验;多组间比较采用单因素方差分析,两两组间比较方差齐性时采用 LSD- t 检验,方差非齐性时采用 Tamhane's T_2 检验。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。ROC 曲线分析计算 SBDP120 判别 sTBI, mTBI 的曲线下面积(area under ROC curve, AUC)及其 95% 置信区间(CI)、临界值(Cut-off)及其敏感度、特异度。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血清 SBDP145 与 SBDP120 检测结果 见表 1。健康对照组、mTBI 及 sTBI 组三组之间血清 SBDP145 水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。与健康对照组相比,sTBI 和 mTBI 组的血清 SBDP120 水平均显著升高,差异有统计学意义($P < 0.01$);但 sTBI 组与 mTBI 组间血清 SBDP120 水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 各组血清 SBDP145 和 SBDP120 测定结果($\bar{x} \pm s$)

项 目	sTBI 组($n=43$)	mTBI 组($n=43$)	对照组($n=43$)	F	P^a	P^b	P^c
SBDP145(ng/ml)	6.49 ± 0.78	6.45 ± 0.81	6.06 ± 1.08	1.340	0.115	0.235	0.684
SBDP120(ng/ml)*	12.64 ± 11.44	11.67 ± 9.14	7.06 ± 2.23	9.873	0.001	0.008	0.515

注:^a代表 sTBI 组与对照组比较;^b代表 mTBI 组与对照组比较;^c代表 sTBI 组与 mTBI 组比较。*代表数据经对数转换后采用单因素方差分析。

2.2 ROC 曲线分析 为探讨血清 SBDP120 对 TBI 及 mTBI 患者的辅助诊断价值,采用 ROC 曲线分析,结果显示血清 SBDP120 区分 TBI 与健康对照组的 AUC 为 0.781 (95% CI: 0.690 ~ 0.872, $P < 0.001$), Cut-off 值为 7.22 ng/ml,敏感度为 78.82%,特异度为 67.60%;SBDP120 区分 mTBI 患者与健康对照者的 AUC 为 0.736 (95% CI: 0.624 ~ 0.848, $P < 0.001$), Cut-off 值为 7.13 ng/ml,敏感度为 76.20%,特异度为 64.90%。此外,血清 SBDP120 在头颅 CT 阴性和头颅 CT 阳性 TBI 患者的分辨中有一定的准确度: AUC 为 0.709 (95% CI: 0.582 ~ 0.837, $P = 0.007$), Cut-off 值为 8.83 ng/ml,敏感度为 59.02%,特异度为 83.30%。

2.3 血清 SBDP120 水平与 TBI 患者预后 血清 SBDP120 水平在 TBI 患者预后好组 (13.17 ± 11.26 ng/ml) 和预后差组 (11.54 ± 8.96 ng/ml) 之间差异无统计学意义 ($P = 0.178 > 0.05$),与 GOS 评分无相关性 ($r = -0.173$, $P = 0.156 > 0.05$)。

3 讨论 TBI 患者中, mTBI 约占 TBI 的 61.7%, 占有比例较高^[3]。与 sTBI 相比, mTBI 的损伤程度相对较小,但其临床症状较隐匿,若未得到及时有效的诊断和治疗,将会给许多患者留下多种不易缓解的后遗症。单纯靠 CT, MRI 及其他辅助诊断难以明确诊断及评估伤情程度^[4]。近年来,随着生物标志物在脑外伤领域的深入研究,许多学者发现多种胶质细胞或神经元合成的蛋白可作为中枢神经系统损伤的血清学标志物,如血清神经元特异性烯醇化酶(NSE), S-100 β 和神经胶质纤维酸性蛋白(GFAP)等。然迄今,仍未有可用于 TBI (特别是 mTBI) 临床诊断的血清学标志物。由于 NSE 半衰期较长,用其评估患者损伤时较难评估是初次还是再次损伤;此外,溶血易影响其检测结果^[5];血清 S-100 β 在非脑外伤性的创伤病人中也会升高^[6];GFAP 对 mTBI 的诊断和判断预后有待证明^[7]。

已有动物和临床实验发现颅脑损伤后,血清或脑脊液中 SBDPs 水平升高,是潜在的脑损伤标志物。在大鼠模型中, Pike 等^[8]发现大鼠脑中动脉结扎后其脑脊液 SBDP120 含量显著上升;国内黄锐等^[9]进一步验证了以上结果,同时发现大鼠伤后 72 h 内脑脊液 SBDP120 与 SBDP145 均明显升高。在临床实验中, Pineda 等^[2]研究显示 sTBI 患者脑脊液中的 SBDP120 在伤后 6 h 达到第一个高峰,直到 5 天后开始下降。随后, Mondello 等^[10]也验证了以上结果,并发现 sTBI 患者脑脊液 SBDP145 在伤后也比对照组升高;然而在针对非穿透性 sT-

BI 患者伤后脑脊液中 SBDPs 水平的研究时, Papa 等^[11]发现伤后脑脊液中的 SBDP145 显著上升,但是 SBDP150 和 SBDP120 无明显变化。有文献显示 SBDP145 在脑外伤后脑脊液中的 SBDP145 会显著升高^[10,12],但 Berger 等^[13]检测 TBI 儿童血清 SBDP145 时发现 sTBI 和 mTBI 组与对照组相比均无统计学差异。陈炼等^[14]在针对中国人群的研究中也发现 sTBI 患者脑脊液 SBDP120 和 SBDP145 均显著升高。目前,关于 SBDPs 的研究主要集中在其在脑脊液中的水平,较少涉及其在血清中的水平;至今尚未有研究检测临床 TBI 患者血清中 SBDP120 水平,且有关 TBI 患者血清中 SBDP145 水平的变化仍需进一步验证。本研究首次对 TBI 患者血清中 SBDP120 水平进行检测,并评估其对 mTBI 患者的潜在诊断价值,同时对 TBI 患者血清中 SBDP145 水平进行验证。研究发现脑外伤后 (24 h 内) sTBI 与 mTBI 患者血清 SBDP120 水平均明显升高; ROC 曲线分析显示,血清 SBDP120 对 TBI, 特别是 mTBI 的判别具有重要的临床价值,与之前的研究相符^[8,10,14],进一步提示 calpain 和 caspase-3 通过参与分解 α II 血影蛋白产生 SBDPs 在脑损伤的病理变化过程中起重要的作用;结果还显示血清 SBDP120 对 CT 阳性与 CT 阴性的脑外伤患者具有较好的判别价值,当最大特异度为 100% 时, SBDP120 浓度为 3.35 ng/ml,提示通过检测 SBDP120 水平可能对减少 mTBI 患者头颅 CT 检查有一定的帮助,若能应用于临床可减少患者检查费用,降低患者暴露在 X 射线中的危险,有助于诊断 CT 阴性的 mTBI 患者。有研究发现 TBI 患者脑脊液 SBDP120 水平可评估患者预后^[10,14],但也有文献报道脑脊液 SBDP120 与 TBI 预后无关^[2],本研究发现血清 SBDP120 与 TBI 患者预后无显著相关性。由于脑脊液和血清成分存在较大差异,患者脑脊液和血清中 SBDP120 水平与预后的差异可能是由于血脑屏障的作用,也可能归因于其他未知的机制,这有待进一步的深入研究。此外本研究发现脑外伤后 24 h 内患者血清 SBDP145 与正常对照组间无显著差异,该结果与 Berger 等^[13]人的研究一致。TBI 患者 SBDP145 在脑脊液中的变化情况与血清中的变化情况不同可能与血脑屏障破坏不同严重程度导致的不同的 SBDP145 释放机制有关,该部分结果有待进一步验证。

综上所述,血清 SBDP120 水平在 sTBI 和 mTBI 患者中均显著升高,对于 mTBI 具有较高的诊断价值,有望成为 mTBI 的无创伤诊断生物标志物。
(下转 15 页)

参考文献:

- [1] 侯明山, 蔺鹏祯, 杨 军, 等. 血浆和肽素水平与脑外伤患者病情严重程度相关性研究[J]. 现代检验医学杂志, 2016, 31(4): 98-99, 103.
- Hou MS, Lin PZ, Yang J, et al. Correlation study on plasma copeptin levels and disease severity degree of patients with brain injury[J]. J Mod Lab Med, 2016, 31(4): 98-99, 103.
- [2] Pineda JA, Lewis SB, Valadka AB, et al. Clinical significance of alphaII-spectrin breakdown products in cerebrospinal fluid after severe traumatic brain injury[J]. J Neurotraum, 2007, 24(2): 354-366.
- [3] 胡 锦, 姚海军, 刘 永, 等. 华东地区颅脑创伤流行病学调查[J]. 中华神经外科杂志, 2008, 24(2): 88-91.
- Hu J, Yao HJ, Liu Y, et al. A prospective epidemiological investigation of the hospitalized patients with traumatic brain injury in the eastern of China[J]. Chin J Neurosurg, 2008, 24(2): 88-91.
- [4] 王 欣, 谢国强, 任超杰, 等. 神经元特异性烯醇化酶(NSE)在早期脑挫裂伤诊断中的意义[J]. 现代检验医学杂志, 2013, 28(3): 92-94.
- Wang X, Xie GQ, Ren CJ, et al. Diagnostic value of NSE(neuron specific enolase) in the patients of early brain contusion and laceration[J]. J Mod Lab Med, 2013, 28(3): 92-94.
- [5] Tolan NV, Vidal-Folch N, Algeciras-Schimnich A, et al. Individualized correction of neuron-specific enolase (NSE) measurement in hemolyzed serum samples[J]. Clin Chim Acta, 2013, 424(4546): 216-221.
- [6] Pfortmueller CA, Drexel C, Krähenmann-Müller S, et al. S-100 B concentrations are a predictor of decreased survival in patients with major trauma independently of head injury[J]. Intensive Care Med Exp, 2015, 3(1): 1.
- [7] Papa L, Lewis LM, Falk JL, et al. Elevated levels of serum glial fibrillary acidic protein breakdown products in mild and moderate traumatic brain injury are associated with intracranial lesions and neurosurgical intervention[J]. Ann Emerg Med, 2012, 59(6): 471-483.
- [8] Pike BR, Flint J, Dave JR, et al. Accumulation of calpain and caspase-3 proteolytic fragments of brain-derived alphaII-spectrin in cerebral spinal fluid after middle cerebral artery occlusion in rats[J]. J Cerebr Blood F Met, 2004, 24(1): 98-106.
- [9] 黄 锐. 脑创伤模型大鼠脑组织中 SBDP145 和 SBDP120 的水平测定[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2015, 18(10): 68-69.
- Huang R. Detection of SBDP145 and SBDP120 of rat brain tissue in traumatic brain injury model[J]. Chinese Journal of Practical Nervous Diseases, 2015, 18(10): 68-69.
- [10] Mondello S, Robicsek SA, Gabrielli A, et al. AlphaII-spectrin breakdown products (SBDPs): diagnosis and outcome in severe traumatic brain injury patients[J]. J Neurotraum, 2010, 27(7): 1203-1213.
- [11] Papa L, Robertson CS, Wang KK, et al. Biomarkers improve clinical outcome predictors of mortality following non-penetrating severe traumatic brain injury[J]. Neurocrit Care, 2015, 22(1): 52-64.
- [12] Czeiter E, Mondello S, Kovacs N, et al. Brain injury biomarkers may improve the predictive power of the IMPACT outcome calculator [J]. J Neurotraum, 2012, 29(9): 1770-1778.
- [13] Berger RP, Hayes RL, Richichi R, et al. Serum concentrations of ubiquitin C-terminal hydrolase-L1 and alphaII-spectrin breakdown product 145 kDa correlate with outcome after pediatric TBI[J]. J Neurotraum, 2012, 29(1): 162-167.
- [14] 陈 炼, 邢泽刚. 重型颅脑损伤患者脑脊液 SBDPs 的水平变化[J]. 中国临床神经外科杂志, 2014, 19(6): 354-357.
- Chen L, Xing ZG. Change in levels of SBDPs in cerebrospinal fluid and their meaning in patients with severe traumatic brain injury[J]. Chin J Clin Neurosurg, 2014, 19(6): 354-357.

收稿日期: 2016-11-16

修回日期: 2016-11-28