

MITF 表达与黑素生成密切相关的 TYR、TYRP1、TYRP2 的表达一致,提示 NSV 黑素生成与 MITF 的转录调控密切相关;②NSV 存在显著的 TYRP2 表达下调现象:尽管由于表皮黑素细胞含量较少使得我们的原位检测 TYRP2 的表达相对定量正常,但在定量更为准确的对培养黑素细胞进行的免疫印迹检测中,我们发现了 NSV 患者的正常肤色区黑素细胞存在 TYRP2 的显著抑制现象。在我们另外一项对正常人黑素细胞的研究中也发现,MITF 基因敲除后 TYRP2 表达反而显著上调,这些现象均表明,TYRP2 可能在不依赖于 MITF 的转录调控机制。有关 TYRP2 研究文献报道较少,有学者认为 TYRP2 的功能可能远远不止于参与 TYR 相关的黑素生成功能,而且,在恶性黑色素瘤中也发现了针对 TYRP2 的 T 淋巴细胞^[10]。

研究 MITF 转录调控网络对于进一步阐明白癜风的发病机制,具有重要意义。本研究结果表明了 NSV 和 SV 存在不同的 MITF 转录调控,我们还需要对 MITF 转录调控网络特别是 TYRP2 的功能作进一步研究与探讨。

参考文献

- 1 Gauthier Y, Cario Andre M, Taïeb A. A critical appraisal of vitiligo etiologic theories. Is melanocyte loss a melanocytorrhagy[J]. *Pigment Cell Res*, 2003, 16(4):322-332
- 2 Dell'anna ML, Picardo M. A review and a new hypothesis for non-immunological pathogenetic mechanisms in vitiligo[J]. *Pigment Cell*

- Res, 2006, 19(5):406-411
- 3 Schallreuter KU, Bahadoran P, Picardo M, *et al.* Vitiligo pathogenesis: autoimmune disease, genetic defect, excessive reactive oxygen species, calcium imbalance, or what else[J]. *Exp Dermatol*, 2008, 17(2):139-140; discussion 141-160
- 4 Schallreuter KU, Kothari S, Chavan B, *et al.* Regulation of melanogenesis - controversies and new concepts[J]. *Exp Dermatol*, 2008, 17(5):395-404
- 5 Steingrímsson E, Copeland NG, Jenkins NA. Melanocytes and the microphthalmia transcription factor network[J]. *Annu Rev Genet*, 2004, 38:365-411
- 6 Kurita K, Nishito M, Shimogaki H, *et al.* Suppression of progressive loss of coat color in microphthalmia - vitiligo mutant mice[J]. *J Invest Dermatol*, 2005, 125(3):538-544
- 7 Tassabehji M, Newton VE, Read AP. Waardenburg syndrome type 2 caused by mutations in the human microphthalmia (MITF) gene[J]. *Nat Genet*, 1994, 8(3):251-255
- 8 Tripathi RK, Flanders DJ, Young TL, *et al.* Microphthalmia - associated transcription factor (MITF) locus lacks linkage to human vitiligo or osteopetrosis: an evaluation[J]. *Pigment Cell Res*, 1999, 12(3):187-192
- 9 Manga P, Sheyn D, Yang F, *et al.* A role for tyrosinase - related protein 1 in 4 - tert - butylphenol - induced toxicity in melanocytes: implications for vitiligo[J]. *Am J Pathol*, 2006, 169:1652-1662
- 10 Bam M, Bagchi T. Absence of tyrosinase - related protein - 2/dopachrome tautomerase transcripts in PBMCs from vitiligo patients[J]. *Scand J Immunol*, 2009, 69(4):366-373

(收稿日期:2012-07-03)

(修回日期:2012-09-29)

血浆和肽素浓度与脑外伤预后的相关分析

杨志辉 张祖勇 俞文华 陈宜德 吴晓玉 董晓巧

摘要 **目的** 检测脑外伤患者血浆和肽素浓度,揭示其与脑外伤预后的相关性。**方法** 选取重型脑外伤患者和健康体检者各 116 例,采用 ELISA 法测定血浆和肽素浓度,统计分析血浆和肽素浓度与脑外伤后 6 个月内神经功能预后不良(格拉斯哥预后评分 1~3 分)和死亡的相关性。**结果** Mann-Whitney U 检验显示,脑外伤患者血浆和肽素浓度($425.6 \pm 163.9 \text{ pg/ml}$)较健康体检者($54.6 \pm 18.1 \text{ pg/ml}$)明显增高($P < 0.01$)。多因素分析显示,血浆和肽素浓度与入院时格拉斯哥评分呈显著负相关($P < 0.01$),是脑外伤后 6 个月内神经功能预后不良(OR = 1.172, 95% CI:1.097~1.891, $P < 0.01$)和死亡(OR = 1.205, 95% CI:1.103~2.216, $P < 0.01$)的独立危险因素。受试者工作特征曲线分析显示,血浆和肽素浓度预测脑外伤后 6 个月神经功能预后不良(曲线下面积 = 0.894, 95% CI:0.838~0.942, $P < 0.01$)和死亡(曲线下面积 = 0.903, 95% CI:0.842~0.961, $P < 0.01$)有显著预测价值。**结论** 脑外伤后血浆和肽素浓度显著升高,该指标测定可显著预测脑外伤患者预后。

基金项目:浙江省医药卫生科技计划项目(2012KYB148)

作者单位:318020 浙江省台州市第一人民医院 EICU(杨志辉、陈宜德、吴晓玉);310006 杭州市第一人民医院神经外科(张祖勇、俞文华、董晓巧)

通讯作者:董晓巧,电子信箱:dxqhyy@163.com

关键词 和肽素 脑外伤 预后

Relationship between Plasma Copeptin Concentration and Outcomes of Traumatic Brain Injury. Yang Zhihui, Zhang Zuyong, Yu Wenhua, et al. Emergency Intensive Care Unit, The First People's Hospital of Taizhou, Zhejiang 318020, China

Abstract Objective To determine plasma copeptin concentrations and investigate its association with outcomes of traumatic brain injury. **Methods** One hundred and sixteen patients and 116 healthy controls were recruited into this study. Plasma copeptin concentrations were measured by ELISA. Its associations with 6-month unfavorable neurological outcome (Glasgow Outcome Scale scores of 1-3) and mortality were analyzed statistically. **Results** Results of Mann-Whitney *U* test, showed that plasma copeptin concentrations were substantially higher in the patients than in healthy controls ($425.6 \pm 163.9 \text{ pg/ml}$ vs $54.6 \pm 18.1 \text{ pg/ml}$, $P < 0.01$). A multivariate analysis showed that plasma copeptin concentration was an independent predictor for 6-month unfavorable neurological outcome (OR = 1.172, 95% CI: 1.097 - 1.891, $P < 0.01$) and mortality (OR = 1.205, 95% CI: 1.103 - 2.216, $P < 0.01$) of patients and negatively associated with Glasgow Coma Scale scores on admission ($P < 0.01$). A receiver operating characteristic curve showed that plasma copeptin concentration predicted 6-month unfavorable neurological outcome (area under curve = 0.894, 95% CI: 0.838 - 0.942, $P < 0.01$) and mortality (area under curve = 0.903, 95% CI: 0.842 - 0.961, $P < 0.01$) of patients statistically significantly. **Conclusion** Plasma copeptin concentration increases obviously after traumatic brain injury and its determination can predict markedly clinical outcomes of patients with traumatic brain injury.

Key words Copeptin; Traumatic brain injury; Prognosis

和肽素是精氨酸加压素原羧基末端的一部分,其在血浆中的稳定性优于精氨酸加压素,因此被作为精氨酸加压素的替代标志物^[1]。缺血性或出血性脑卒中患者血浆和肽素浓度显著升高,并与疾病预后显著相关^[2-4]。血浆和肽素可反映颅脑损伤的严重程度^[5]。笔者既往研究发现,血浆和肽素水平与脑外伤后1个月内的死亡显著相关^[6]。但血浆和肽素水平与脑外伤长期预后的关系少见报道,本研究检测重型脑外伤患者血浆和肽素水平,从而分析其对脑外伤患者长期预后的预测价值。

对象与方法

1. 对象:浙江省台州市第一人民医院和杭州市第一人民医院2008年4月~2011年4月共收治重型脑外伤(GCS < 9分)患者116例,作为脑外伤组。其中男性81例,女性35例;患者年龄18~76岁,平均年龄 44.3 ± 16.3 岁;外伤至入院时间0.5~6.0h,平均 2.6 ± 1.3 h;入院时GCS评分3~8分,平均 5.6 ± 1.3 分;单侧或双侧瞳孔散大28例(24.1%),蛛网膜下腔出血50例(43.1%),中线移位($> 5 \text{ mm}$)40例(34.5%),环池消失32例(27.6%),急诊手术治疗54例(46.6%)。选择杭州市第一人民医院同期健康体检者116例,作为对照组。其中男性78例,女性38例;年龄24~68岁,平均年龄 42.3 ± 14.9 岁;所有研究对象均除外糖尿病、高血压病、既往脑血管性疾病、使用抗凝剂、严重感染、严重心肝肾疾病及严重头部外伤史。脑外伤病例同时均排除合并其他部位严重外伤及原发性脑干损伤。两组的性别和年龄的差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2. 血浆和肽素浓度检测:脑外伤组在受伤后1.0~9.0h(平均时间 4.8 ± 2.3 h)采集外周静脉血,对照组在健康体检时抽取静脉血,置于EDTA-K₂管中,室温下3000r/min离心

15min,取血浆于-70℃保存待检。采用ELISA法(试剂盒购自上海丰翔生物科技有限公司)检测血浆和肽素浓度,结果以皮克/毫升(pg/ml)表示。

3. 预后评价:脑外伤后6个月通过电话或门诊随访患者格拉斯哥预后评分(GOS),其标准为:1分为死亡;2分为植物生存;3分为重度病残、意识清楚、生活不能自理;4分为中度病残、生活能自理;5分为恢复良好,有轻度精神障碍,能正常生活。定义GOS 1~3分为神经功能预后不良。

4. 统计学方法:采用SPSS 13.0及MedCalc 9.6.4.0.统计软件,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表达,组间比较采用Mann-Whitney *U*检验,计数资料组间比较采用卡方检验,相关性分析采用Spearman相关分析和多元线性回归分析,脑外伤后6个月死亡或神经功能预后不良的危险因素分析采用Logistic回归分析;预测价值的评价采用受试者工作特征曲线(receiver operating curve, ROC)分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 脑外伤患者血浆和肽素浓度的变化:脑外伤组血浆和肽素浓度 $425.6 \pm 163.9 \text{ pg/ml}$ 较对照组 $54.6 \pm 18.1 \text{ pg/ml}$ 明显增高($P < 0.01$)。

2. GCS评分与血浆和肽素浓度的关系:入院时血浆和肽素浓度与入院时GCS评分($r = -0.684$, $P < 0.01$)、瞳孔散大($r = 0.619$, $P < 0.01$)、蛛网膜下腔出血($r = 0.521$, $P < 0.01$)、中线移位 $> 5 \text{ mm}$ ($r = 0.573$, $P < 0.01$)和环池消失($r = 0.594$, $P < 0.01$)均具有显著相关性。进一步行多元线性回归分析显示,血浆和肽素浓度与入院时GCS评分显著负相关($P < 0.01$)。

3. 血浆和肽素浓度与脑外伤患者 6 个月神经功能预后不良的相关分析:本组重型脑外伤患者在外伤后 6 个月内神经功能预后不良 49 例(42.2%)。从表 1 可见,入院时 GCS 评分、瞳孔散大、蛛网膜下腔出血、中线移位(>5mm)、环池消失及血浆和肽素浓度与脑外伤 6 个月神经功能预后不良显著相关(P 均 < 0.01)。进一步行 Logistic 回归分析显示,入院时 GCS 评分($OR = 0.342, 95\% \text{ CI}: 0.202 \sim 0.689, P < 0.01$)

和血浆和肽素浓度($OR = 1.172, 95\% \text{ CI}: 1.097 \sim 1.891, P < 0.01$)是脑外伤患者 6 个月神经功能预后不良的独立危险因素。ROC 分析显示,血浆和肽素浓度预测脑外伤后 6 个月神经功能预后不良有显著预测价值(曲线下面积 = 0.894, $95\% \text{ CI}: 0.838 \sim 0.942, P < 0.01$),且判定血浆和肽素 492.8pg/ml,对预测脑外伤后 6 个月神经功能预后不良有 89.8% 的敏感度和 74.6% 的特异性。

表 1 脑外伤 6 个月临床预后不良相关的影响因素

项目	6 个月神经功能预后			6 个月死亡		
	预后不良组	预后良好组	P	死亡组	生存组	P
病例数(n)	49	67	—	28	88	—
性别(男性/女性)	34/15	47/20	0.930	19/9	62/26	0.794
年龄(岁)	42.5 ± 15.9	45.8 ± 17.7	0.416	43.5 ± 15.8	45.3 ± 15.7	0.318
入院时间(h)	2.5 ± 1.2	2.8 ± 1.4	0.561	2.4 ± 1.1	2.7 ± 1.3	0.404
采血时间(h)	4.9 ± 2.4	4.7 ± 2.2	0.387	5.0 ± 2.5	4.7 ± 2.3	0.912
GCS 评分(分)	4.1 ± 0.6	6.4 ± 0.9	<0.01	4.0 ± 0.5	6.5 ± 1.0	<0.01
蛛网膜下腔出血[$n(\%)$]	28 (57.1%)	22 (32.8%)	<0.01	20 (71.4%)	30 (34.1%)	<0.01
中线移位 >5mm[$n(\%)$]	25 (51.0%)	15 (22.4%)	<0.01	18 (64.3%)	22 (25.0%)	<0.01
环池消失[$n(\%)$]	22 (44.9%)	10 (14.9%)	<0.01	16 (57.1%)	16 (18.2%)	<0.01
瞳孔散大[$n(\%)$]	20 (40.8%)	8 (11.9%)	<0.01	15 (53.6%)	13 (14.8%)	<0.01
急诊手术[$n(\%)$]	24 (49.0%)	30 (44.8%)	0.654	15 (53.6%)	39 (44.3%)	0.393
血浆和肽素浓度(pg/ml)	641.6 ± 154.6	358.6 ± 130.7	<0.01	667.8 ± 158.9	341.6 ± 127.6	<0.01

两组间计量资料比较采用 Mann - Whitney U 检验,计数资料比较采用卡方检验

4. 血浆和肽素浓度与脑外伤患者 6 个月死亡的相关分析:本组重型脑外伤患者在外伤后 6 个月内死亡 28 例(24.1%)。从表 1 可见,入院时 GCS 评分、瞳孔散大、蛛网膜下腔出血、中线移位(>5mm)、环池消失及血浆和肽素浓度与脑外伤 6 个月死亡显著相关(P 均 < 0.01)。进一步行 Logistic 回归分析显示,入院时 GCS 评分($OR = 0.298, 95\% \text{ CI}: 0.197 \sim 0.665, P < 0.01$)和血浆和肽素浓度($OR = 1.205, 95\% \text{ CI}: 1.103 \sim 2.216, P < 0.01$)是脑外伤患者 6 个月死亡的独立危险因素。ROC 分析显示,血浆和肽素浓度预测脑外伤后 6 个月死亡有显著预测价值(曲线下面积 = 0.903, $95\% \text{ CI}: 0.842 \sim 0.961, P < 0.01$),且判定血浆和肽素浓度 514.3pg/ml,对预测脑外伤后 6 个月死亡有 85.7% 的敏感度和 79.6% 的特异性。

讨 论

和肽素是精氨酸加压素原羧基末端的一部分,与精氨酸加压素和神经垂体素运载蛋白 II 一起由神经垂体等量分泌,共包括 39 个氨基酸,相对分子质量为 5000Da^[1]。和肽素可能与神经垂体运载蛋白 II 一同

作为精氨酸加压素的运载蛋白,参与精氨酸加压素的形成与成熟^[7]。精氨酸加压素是反映下丘脑 - 垂体 - 肾上腺轴激活水平的敏感指标,是反映危重病严重程度及预后的重要标志物^[8]。但是,精氨酸加压素极不稳定,半衰期短,极易和血小板亲和并迅速被清除,同时测量方法繁琐,不易推广。和肽素在血中长期保持稳定,无酶切位点和受体,除经肾脏排泄外,在体内几乎不降解,而且不需要特殊的处理血浆就可快速、可靠地测定其含量。因此,和肽素有望成为临床上循环中精氨酸加压素水平测定的替代物^[9]。

和肽素在心血管疾病、肺部感染、危重症等疾病的早期诊断及预后判断方面有着重要的临床价值,是一种重要的临床疾病预测因子^[10]。缺血性卒中患者,血浆和肽素水平显著升高,其浓度与脑卒中患者入院时美国国立卫生院神经功能缺损评分显著相关,是脑卒中后 1 年内神经功能预后不良和死亡的独立危险因素,对预测 1 年内神经功能预后不良和死亡有较高的敏感度和特异性,并且能够显著提高美国国立卫生院神经功能缺损评分对缺血性卒中的预后预测^[2, 3]。同时,外周血和肽素水平预测短暂性脑缺血

患者再发卒中的风险性优于 ABCD2 评分法,且可以改善 ABCD2 评分法预测的准确性^[11]。笔者既往研究提示,脑出血患者血浆和肽素水平亦显著升高,其浓度与脑出血患者 1 周内死亡显著相关,且有较高的预测价值^[4]。在颅脑损伤的相关研究中,血浆和肽素可反映颅脑损伤的严重程度^[5]。笔者既往研究亦发现,血浆和肽素水平与脑外伤后 1 个月内的死亡显著相关^[6]。但血浆和肽素与脑外伤的长期预后缺乏相关性研究。本研究进一步分析发现,血浆和肽素浓度在脑外伤后早期(6h 内)显著升高,与脑外伤患者入院时 GCS 评分显著负相关,是脑外伤患者 6 个月神经功能预后不良和死亡的独立危险因素。ROC 曲线分析结果表明,血浆和肽素浓度预测脑外伤后 6 个月神经功能预后不良和死亡有显著预测价值,且有高的敏感度和特异性。因此,血浆和肽素可用于反映脑外伤的严重程度,为脑外伤预后的早期预测提供实验室依据。

参考文献

- 1 Darzy KH, Dixit KC, Shalet SM, *et al.* Circadian secretion pattern of copeptin, the C-terminal vasopressin precursor fragment [J]. Clin Chem, 2010,56(7):1190-1191
- 2 Katan M, Fluri F, Morgenthaler NG, *et al.* Copeptin: a novel, independent prognostic marker in patients with ischemic stroke [J]. Ann Neurol, 2009,66(6):799-808
- 3 Urwyler SA, Schuetz P, Fluri F, *et al.* Prognostic value of copeptin: one-year outcome in patients with acute stroke [J]. Stroke, 2010,41(7):1564-1567
- 4 Dong XQ, Huang M, Yu WH, *et al.* Change in plasma copeptin level after acute spontaneous basal ganglia hemorrhage [J]. Peptides, 2011,32(2):253-257
- 5 Kleindienst A, Brabant G, Morgenthaler NG, *et al.* Following brain trauma, copeptin, a stable peptide derived from the AVP precursor, does not reflect osmoregulation but correlates with injury severity [J]. Acta Neurochir Suppl, 2010,106(2):221-224
- 6 Dong XQ, Huang M, Yang SB, *et al.* Copeptin is associated with mortality in patients with traumatic brain injury [J]. J Trauma, 2011,71(5):1194-1198
- 7 Jochberger S, Morgenthaler NG, Mayr VD, *et al.* Copeptin and arginine vasopressin concentrations in critically ill patients [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2006,91(11):4381-4386
- 8 Wenzel V, Raab H, Dünser MW. Role of arginine vasopressin in the setting of cardiopulmonary resuscitation [J]. Best Pract Res Clin Anaesthesiol, 2008,22(2):287-297
- 9 黄素素,张云云,丁新生. 和肽素——一种新的、独立的缺血性卒中的预后标记 [J]. 中华神经科杂志, 2011,44(11):782-784
- 10 Morgenthaler NG. Copeptin: a biomarker of cardiovascular and renal function [J]. Congest Heart Fail, 2010,16(Suppl 1):S37-44
- 11 Katan M, Nigro N, Fluri F, *et al.* Stress hormones predict cerebrovascular re-events after transient ischemic attacks [J]. Neurolog, 2011,76(6):563-566 (收稿日期:2012-07-04)
(修回日期:2012-09-07)

正常人黑素细胞 MITF 对酪氨酸酶 相关蛋白的转录调控研究

黎 钊 王 平 洪为松 郑俊惠

摘 要 **目的** 研究正常人黑素细胞小眼畸形相关转录因子(MITF)对与黑素生成密切相关的酪氨酸酶相关蛋白(TRPs)家族的转录调控。**方法** 应用小 RNA 干扰技术(慢病毒感染),对培养的原代正常人黑素细胞进行 MITF 基因沉默,然后应用实时定量 PCR 和免疫印迹方法,分别检测 MITF 基因沉默前后,MITF、酪氨酸酶(TYR)、酪氨酸酶相关蛋白 1(TYRP1)和酪氨酸酶相关蛋白 2(TYRP2)的基因与蛋白表达水平。**结果** 正常人黑素细胞具有显著表达的 MITF、TYR、TYRP1 和 TYRP2;MITF 基因沉默后,MITF、TYR 和 TYRP1 的基因表达水平分别下降 2 倍($P=0.001$)、1.5 倍($P=0.05$)和 5 倍($P=0.005$),TYRP2 的表达水平上调 3 倍($P=0.004$);而 MITF 基因沉默后的 MITF、TYR、TYRP1 的蛋白表达也显著下降,TYRP2 蛋白显著升高。**结论** 黑素细胞 TRPs 家族与 MITF 转录调控密切相关,TYRP2 可能在不依赖于 MITF 的转录调控。

关键词 黑素细胞 MITF TYR TYRP1 TYRP2

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(Y2080112);杭州市医学重点专科专病基金资助项目(20100733Q08)

作者单位:310009 杭州,浙江中医药大学附属杭州第三医院(黎钊);杭州市第三人民医院皮肤科(王平、洪为松、郑俊惠)

通讯作者:王平,电子邮箱:dermwang@yahoo.com.cn